

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



S. PTO
C97834291

04/12/01

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C12N 15/12, A61K 48/00

A3

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/23583

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum:

27. April 2000 (27.04.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE99/03343

(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Oktober 1999 (18.10.99)

(30) Prioritätsdaten:
198 47 779.1 16. Oktober 1998 (16.10.98) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):
DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM
STIFTUNG DES ÖFFENTLICHEN RECHTS [DE/DE]; In
Neuenheimer Feld 280, D-69120 Heidelberg (DE).

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KRAMMER, Peter
[DE/DE]; Werderstrasse 11, D-69120 Heidelberg (DE).
MÜLLER-SCHILLING, Martina [DE/DE]; In der unteren
Rombach 16, D-69118 Heidelberg (DE). OREN, Moshe
[IL/IL]; Weizmann Inst. of Science, 76100 Rehovot (IL).

(74) Anwalt: HUBER, Bernard; Huber & Schüssler, Truderinger
Strasse 246, D-81825 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DK, EE, ES, FI, GB, GD,
GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP,
KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW,
ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,
RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE),
OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

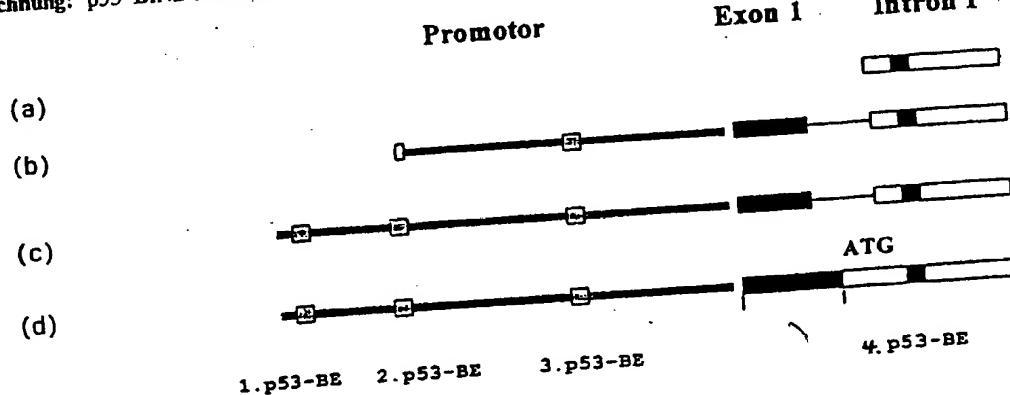
Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchen-
berichts: 10. August 2000 (10.08.00)

(54) Titel: p53 BINDING AREAS

(54) Bezeichnung: p53-BINDUNGSREGIONEN



(57) Abstract

The present invention relates to p53 binding areas on a CD95 DNA receptor and to the application of the p53 binding areas in order to affect apoptosis or identify suitable substances therefor.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft p53-Bindungsregionen auf einer CD95-Rezeptor-DNA und die Verwendung der p53-Bindungsregionen zur Beeinflussung von Apoptose bzw. zur Identifizierung von hierfür geeigneten Substanzen.

GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

PCT

An:		
HUBER, B. Huber & Schüssler Truderinger Strasse 246 81825 München ALLEMAGNE	Huber & Schüßler Patentanwälte 26. JAN. 2001	MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNGSBERICHTS (Regel 71.1 PCT)
Frist:	<small>Absendedatum</small> <small>(Tag/Monat/Jahr)</small>	25.01.2001
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2743 Wd		WICHTIGE MITTEILUNG
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03343	Internationales Anmelddatum (Tag/Monat/Jahr) 18/10/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 16/10/1998
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Sülberg, A Tel. +49 89 2399-7548
---	---



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS**

Huber & Schüßler
Patentanwälte

PCT

26. JAN. 2001

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2743 Wd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03343	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/10/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 16/10/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12		
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
- Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
- Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.
3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
- I. Grundlage des Berichts
 - II. Priorität
 - III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI. Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 12/05/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 25.01.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Vollbach, S Tel. Nr. +49 89 2399 8715



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03343

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):
Beschreibung, Seiten:

1-11 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-12 mit Telefax vom 21/07/2000

Zeichnungen, Blätter:

1/26-26/26 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-8, eingereicht mit Schreiben vom 16.3.00.

2. Hinsichtlich der Sprache: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
 - die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
 - die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03343

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
 Ansprüche, Nr.:
 Zeichnungen, Blatt:

5. Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-12
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-12
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

1. In der vorliegende Anmeldung werden p53 Bindungsregionen auf der CD95-Rezeptor DNA bereitgestellt. Diese Bindungsregionen finden Verwendung in der Identifizierung von Apoptosis beeinflussenden Substanzen und in der Therapie von Erkrankungen.
2. Die folgenden Dokumente des Recherchenberichtes werden für die Beurteilung der Neuheit und der erfinderischen Tätigkeit herangezogen.

- D1: CHAN H ET AL: 'IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF A P53 BINDING ELEMENT WITHIN THE PROMOTER OF THE FAS/APO-1 (CD95) GENE' PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONGRESS OF IMMUNOLOGY, DE, BERLIN, SPRINGER, Bd. CONGRESS 8, 1992, Seite 778 XP000572417
- D2: EP-A-0 518 650 (UNIV JOHNS HOPKINS ;PHARMAGENICS INC (US)) 16. Dezember 1992 (1992-12-16)
- D3: RUDERT, F. ET AL.: 'Identification of a Silencer, Enhancer, and Basal Promoter Region in the Human CD95 (Fas/APO-1) Gene.' DNA CELL BIOL., Bd. 14, Nr. 11, 1995, Seiten 931-937, XP000906826

D1 beschreibt die Regulation der Expression der CD95 RNA durch p53 und gibt an, daß eine p53 Konsensussequenz 1.3 kB vor dem ATG des CD95 Gens gefunden wurde. D2 betrifft die Identifizierung von DNA Sequenzen, die p53 binden. Die Bindungsregion für p53 zwischen allen identifizierten Fragmenten weisen strukturell homologe Sequenzen auf. Mittels Genkonstrukte, die das Marker Gen CAT enthalten, wurde ermittelt, daß die Bindung von p53 an die identifizierten Regionen die Expression von CAT auslöst. Eine Methode zur Selektion von Komponenten wie Oligonukleotide, Peptide und organische Verbindungen, die an diese DNA Sequenzen binden, wird offenbart. Zudem wird die Relevanz der p53 bindenden DNA in der Diagnose und Therapie beschrieben.

D2 ist der nächstliegende Stand der Technik, der sich von der vorliegenden Anmeldung nur dadurch unterscheidet, daß die p53 DNA bindenden Sequenzen nicht dem CD95 Gen zugeordnet wurden. Diese Zuordnung zwischen p53 und dem Gen CD95 kann D1 entnommen werden. Es ist weiterhin bekannt, daß p53 verschiedene Gene anschalten kann. Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Bindungsregionen genauestens identifiziert ist, kann durch u.a. ein Computerscreening ermittelt werden, in welchem weiteren Gen

sich eine entsprechende Bindungsregion befindet. Testsystem zur Bestimmung, ob p53 die Transkription stimuliert sind auch im Stand der Technik offenbart. Da weiterhin die Sequenzen, die für CD95 codieren zum Stand der Technik gehören (siehe D3) kann für die Identifizierung von Sequenzen aus dem CD95 Gen , welche p53 binden, keine erfinderische Tätigkeit anerkannt werden. Es werden nur Standardtechniken verwendet und der Hinweis, der therapeutischen Verwendung ist auch hinlänglich offenbart. Daher ist der gesamte Anmeldegegenstand unter Artikel 33(3) PCT nicht gewährbar.

3. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 10-12 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Amended claims

1

K. 2743

Patentansprüche

1. p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA, wobei p53 durch Bindung an die p53-Bindungsregion die CD95-Rezeptor-DNA aktivieren kann.
- 5 2. p53-Bindungsregion nach Anspruch 1, mit der Sequenz von Fig. 4 und/oder Fig. 5 bzw. einer hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedlichen Sequenz, wobei letztere Sequenz mit jener von Fig. 4 und/oder Fig. 5 hybridisiert und an die p53 binden und die CD95-Rezeptor-DNA aktivieren kann.
- 10 3. p53-Bindungsregion nach Anspruch 2, mit der Sequenz von Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13.
- 15 4. Vektor, enthaltend die p53-Bindungsregion nach einem der Ansprüche 1-3.
5. Vektor nach Anspruch 4, wobei der Vektor ausgewählt ist aus CD95(Ps)-LUC, CD95(P)-LUC, CD95(I+SV)-LUC, CD95(Ps+I)-LUC, p1139, p1140, p1141, p1142, p1140 IMI, p1140 IMII, p1140 IMIII, p1140 IMIV, p1141 IMIII, p1141 1p53, p1141 2p53, p1141 3p53, p1141 ΔBgl, p1141 ΔSpe, p1141 ΔMph, p1142 TAG, p1142 IMIII, p1142 ΔBgl, p1142 ΔSpe und p1142 ΔMph.
- 25 6. Verwendung der p53-Bindungsregion nach einem der Ansprüche 1-3 bzw. des Vektors nach Anspruch 4 oder 5 zur Identifizierung von Apoptose beeinflussenden Substanzen.
7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei die Beeinflussung eine Induktion oder eine Inhibition von Apoptose umfaßt.
- 30 8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei die Beeinflussung im Rahmen einer Diagnose und/oder Therapie von Erkrankungen erfolgt.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Erkrankungen Virus-, Leber-, neurodegenerative, Autoimmun- und Tumorerkrankungen umfassen.
- 5 - 10. Verfahren zur Beeinflussung von Apoptose, umfassend die Aktivierung oder Inhibierung der p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA nach einem der Ansprüche 1 bis 3.
- 10 11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Beeinflussung im Rahmen einer Diagnose und/oder Therapie von Erkrankungen erfolgt.
- 15 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Erkrankungen Virus-, Leber-, neurodegenerative, Autoimmun- und Tumorerkrankungen umfassen.

Amended Claims

1. A p53 binding region of a CD95 receptor DNA, wherein p53 may activate the CD95 receptor DNA by binding to the p53 binding region.
2. The p53 binding region according to claim 1, which comprises the sequence of fig. 4 and/or fig. 5 or a sequence differing therefrom by one or several base pairs, wherein the latter sequence hybridizes with that of figure 4 and/or figure 5 and may bind to p53 and activate the CD95 receptor DNA.
3. The p53 binding region according to claim 2, which comprises the sequence of figures 7, 8, 9, 10, 11, 12 or 13.
4. A vector comprising the p53 binding region according to any of claims 1 to 3.
5. The vector according to claim 4, wherein the vector is selected from the group consisting of CD95(Ps)-LUC, CD95(P)-LUC, CD95(I+SV)-LUC, CD95(Ps+I)-LUC, p1139, p1140, p1141, p1142, p1140 IMI, p1140 IMII, p1140 IMIII, p1140 IMIV, p1141 IMIII, p1141 1p53, p1141 2p53, p1141 3p53, p1141 ΔBgl, p1141 ΔSpe, p1141 ΔMph, p1142 TAG, p1142 IMIII, p1142 ΔBgl, p1142 ΔSpe, and p1142 ΔMph.

6. Use of the p53 binding region according to any of claims 1 to 3 and/or the vector according to claim 4 or 5 to identify apoptosis-influencing substances.
7. Use according to claim 6, wherein the influence comprises an induction or an inhibition of apoptosis.
8. Use according to claim 7, wherein the influence takes place on the basis of a diagnosis and/or therapy of diseases.
9. Use according to claim 8, wherein the diseases comprise viral, liver, neurodegenerative, autoimmune and tumoral diseases.
10. A process for influencing apoptosis, comprising the activation or inhibition of the p53 binding region of a CD95 receptor DNA according to any of claims 1 to 3.
11. The process according to claim 10, wherein the influence takes place on the basis of a diagnosis and/or therapy of diseases.
12. The process according to claim 11, wherein the diseases comprise viral, liver, neurodegenerative, autoimmune and tumoral diseases.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts K 2743 Wd	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE 99/ 03343	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/10/1999	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 16/10/1998	
Anmelder DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGZENTRUM et al.			

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.
 Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
- Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarsten Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 26

- keine der Abb.

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03343

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Insofern es sich um "in vivo" Verfahren zur Behandlung/Diagnose des menschlichen/tierischen Körpers handelt, wurde die Recherche der Ansprüche 8-12 durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12N15/12 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)
IPK 7 C12N A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CHAN H ET AL: "IDENTIFICATION AND ANALYSIS OF A P53 BINDING ELEMENT WITHIN THE PROMOTER OF THE FAS/APO-1 (CD95) GENE" PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CONGRESS OF IMMUNOLOGY, DE, BERLIN, SPRINGER, Bd. CONGRESS 8, 1992, Seite 778 XP000572417 das ganze Dokument	1-12
P, X	MÜLLER, M. ET AL.: "p53 Activates the CD95 (APO-1/Fas) Gene in Response to DNA Damage by Anticancer Drugs." J. EXP. MED., Bd. 188, 7. Dezember 1998 (1998-12-07), Seiten 2033-2045, XP000906792 Abbildungen 9,10	1-12

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipie oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

4. Mai 2000

19/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mata Vicente, T.

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	RUDERT, F. ET AL.: "Identification of a Silencer, Enhancer, and Basal Promoter Region in the Human CD95 (Fas/APO-1) Gene." DNA CELL BIOL., Bd. 14, Nr. 11, 1995, Seiten 931-937, XP000906826 Seite 932, Spalte 1, Absatz 3 Seite 936, Spalte 2, Absatz 2	1-12
A	WO 98 08965 A (GENESIS RESEARCH & DEV CORP LI) 5. März 1998 (1998-03-05) SEQ ID NO:30. Zusammenfassung	1-12
A	EP 0 518 650 A (UNIV JOHNS HOPKINS ;PHARMAGENICS INC (US)) 16. Dezember 1992 (1992-12-16) Abbildung 10	1-12
A	BEHRMANN, I. ET AL.: "Structure of the human APO-1 gene." EUR. J. IMMUNOL., Bd. 24, 1994, Seiten 3057-3062, XP000906823 Abbildung 3 Seite 3062, Spalte 1, Absatz 1	1-12
A	WO 95 19367 A (JOLLA CANCER RES FOUND) 20. Juli 1995 (1995-07-20) Beispiele IV,V	1-12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/DE 99/03343

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich Insofern es sich um "in vivo" Verfahren zur Behandlung/Diagnose des menschlichen/tierischen Körpers handelt, wurde die Recherche der Ansprüche 8-12 durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 99/03343

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9808965 A	05-03-1998	US 5912168 A AU 4036797 A EP 0956358 A	15-06-1999 19-03-1998 17-11-1999
EP 0518650 A	16-12-1992	US 5362623 A AT 147512 T AU 666479 B AU 1820092 A CA 2070979 A DE 69216478 D DE 69216478 T DK 518650 T ES 2097878 T GR 3022473 T JP 6078798 A US 5955263 A	08-11-1994 15-01-1997 15-02-1996 17-12-1992 15-12-1992 20-02-1997 19-02-1998 27-01-1997 16-04-1997 31-05-1997 22-03-1994 21-09-1999
WO 9519367 A	20-07-1995	US 5484710 A US 5659024 A US 5908750 A	16-01-1996 19-08-1997 01-06-1999

Der Antrag ist bei der zuständigen mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde oder, wenn zwei oder mehr Behörden zuständig sind, bei der vom Anmelder gewählten Behörde einzureichen. Der Anmelder kann den Namen oder den Zweibuchstaben-Code der Behörde auf der nachstehenden Zeile angeben.

IPEA/

PCT

KAPITEL II

ANTRAG AUF INTERNATIONALE VORLÄUFIGE PRÜFUNG

nach Artikel 31 des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens:
Der (die) Unterzeichnete(n) beantragt (beantragen), daß für die nachstehend bezeichnete internationale Anmeldung
die internationale vorläufige Prüfung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem
Gebiet des Patentwesens durchgeführt wird.

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

Bezeichnung der IPEA	Eingangsdatum des ANTRAGS
----------------------	---------------------------

Feld Nr. I KENNZEICHNUNG DER INTERNATIONALEN ANMELDUNG		Aktenzeichen des Annehmers oder Anwalts
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/03343	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18.10.1999	K 2743 / st (Frühestes) Prioritätstag (Tag/Monat/Jahr) 16.10.1998
Bezeichnung der Erfindung p53-Bindungsregionen		
Feld Nr. II ANMELDER		
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staates anzugeben.) Deutsches Krebsforschungszentrum Stiftung des öffentlichen Rechts Im Neuenheimer Feld 280 69120 Heidelberg	Telefonnr.:	
	Telefaxnr.:	
	Fernschreibnr.:	
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staates anzugeben.) KRAMMER, Peter Werderstr. 11 69120 Heidelberg		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	
Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staates anzugeben.) MÜLLER-SCHILLING, Martina In der unteren Rombach 16 69118 Heidelberg		
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE	

Weitere Anmelder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Fortsetzung von Feld Nr. II ANMELDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

OREN, Moshe
Weizmann Inst. of Science
Rehovot 76100 / Israel

Staatsangehörigkeit (Staat):
IL

Sitz oder Wohnsitz (Staat):
IL

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Weitere Anmelder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Formblatt PCT/IPEA/401 (Fortsetzungsblatt) (Januar 1994; Nachdruck Januar 1998) Siehe Anmerkungen zu diesem Antragsformular

Feld Nr. III ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person ist Anwalt gemeinsamer Vertreter
 und ist vom (von den) Anmelder(n) bereits früher bestellt worden und vertritt ihn (sie) auch für die internationale vorläufige Prüfung.
 wird hiermit bestellt: eine etwaige frühere Bestellung eines Anwalts/gemeinsamen Vertreters wird hiermit widerrufen.
 wird hiermit zusätzlich zu dem bereits früher bestellten Anwalt/gemeinsamen Vertreter, nur für das Verfahren vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde bestellt.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname: bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung.
 Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staates anzugeben.)

Dr. Bernard Huber
 Patentanwälte Huber & Schüßler
 Truderinger Str. 246
 81825 München

Telefonnr.:

089/42 72 47 48

Telefaxnr.:

089/42 72 47 49

Faxschreibrn.:

Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben wird.

Feld Nr. IV ERKLÄRUNG BETREFFEND ÄNDERUNGEN

Der Anmelder wünscht, daß die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde*
 i) die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung aufnimmt.

ii) die Änderungen nach Artikel 34

- der Beschreibung (Änderungen liegen bei)
- der Ansprüche (Änderungen liegen bei)
- der Zeichnungen (Änderungen liegen bei)

berücksichtigt.

- iii) die beim Internationalen Büro eingereichten Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 berücksichtigt (Kopie liegt bei).
- iv) die Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 nicht berücksichtigt, sondern als überholt ansieht.
- v) den Beginn der internationalen vorläufigen Prüfung bis zum Ablauf von 20 Monaten ab dem Prioritätsdatum aufschiebt, sofern die Behörde nicht eine Kopie nach Artikel 19 vorgenommener Änderungen oder eine Erklärung des Anmelders erhält, daß er keine solchen Änderungen vornehmen will (Regel 69.1 d). (Dieses Kästchen darf nur angekreuzt werden, wenn die Frist nach Artikel 19 noch nicht abgelaufen ist.)

* Wenn kein Kästchen angekreuzt wird, wird mit der internationalen vorläufigen Prüfung auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung begonnen: wenn eine Kopie der Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 und/oder Änderungen der internationalen Anmeldung nach Artikel 34 bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde eingetragen, bevor diese mit der Erstellung eines schriftlichen Bescheids oder des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts begonnen hat, wird jedoch die geänderte Fassung verwendet.

Feld Nr. V BENENNUNG VON STAATEN ALS AUSGEWÄHLTE STAATEN

Der Anmelder benennt als ausgewählte Staaten alle auswählbaren Staaten (das heißt, alle Staaten, die bestimmt wurden und durch Kapitel II des PCT gebunden sind) ausgenommen

(Möchte der Anmelder bestimmte Staaten nicht auswählen, sind die Namen oder Zweibuchstaben-Codes dieser Staaten auf den obenstehenden Zeilen anzugeben.)

Feld Nr. VI KONTROLLISTE

Dem Antrag liegen folgende Unterlagen für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung bei:

1. Änderungen nach Artikel 34

Beschreibung

Blätter

Ansprüche

Blätter

Zeichnungen

Blätter

2. Begleitschreiben zu den Änderungen nach Artikel 34

Blätter

3. Kopie der Änderungen nach Artikel 19

Blätter

4. Kopie einer Erklärung nach Artikel 19

Blätter

5. Sonstige (einzelnen aufzählen):

Blätter

Von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde auszufüllen

erhalten

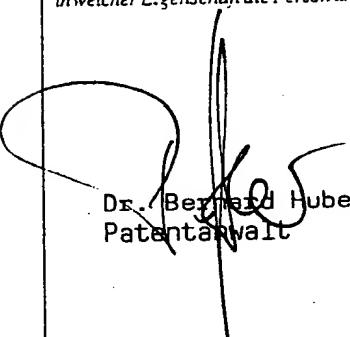
nicht erhalten

Dem Antrag liegen außerdem die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

1. unterzeichnete gesonderte Vollmacht4. Blatt für die Gebührenberechnung2. Kopie der allgemeinen Vollmacht5. sonstige (einzelnen aufzählen): Scheck3. Begründung für das Fehlen der Unterschrift

Feld Nr. VII UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS, ANWALTS ODER GEMEINSAMEN VERTRETERS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.



Dr. Bernhard Huber
Patentanwalt

München, 9.5.2000

1. Datum des tatsächlichen Eingangs des ANTRAGS:

2. Geändertes Eingangsdatum des Antrags aufgrund von BERICHTIGUNGEN nach Regel 60.1.b):

3. Eingangsdatum des Antrags NACH Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum; Punkt 4 und Punkt 5. unten, finden keine Anwendung. Der Anmelder wurde entsprechend unterrichtet4. Eingangsdatum des Antrags INNERHALB 19 Monate ab Prioritätsdatum wegen Fristverlängerung nach Regel 80.5.5. Das Eingangsdatum des Antrags liegt nach Ablauf von 19 Monaten ab Prioritätsdatum, der verspätete Eingang ist aber nach Regel 82 ENTSCHEIDIGT.

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Antrag vom IPEA erhalten am:

SEQUENZPROTOKOLL

<110> Deutsches Krebsforschungszentrum

<120> p53-Bindungsregionen

<130> K 2743

<140> PCT/DE99/03343

<141> 1999-10-18

<150> DE 198 47 779.1

<151> 1998-10-16

<160> 32

<170> PatentIn Ver.-2.1

<210> 1

<211> 3212

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 1

tgaggactct caggaatatg ctggtaaaat aaaaataacc tttagagatg cccaaactgt 60
tttccccaga acaccacat tcatttaggt ttcattcaat agattttca aaggattcca 120
aaggcaaaga agtttggga acagtatata taattaccca accctttgac attagcatac 180
taaggcccct gagaagttt ggattaagaa agtttcaaa ttaaagtaac ccagaatttt 240
ctaagattat ttgaccatga aacatatgtc tccccacaaa gcacatattc ctatccctt 300
gaacttgagg ataattagac gtacgtgggt agaggttagg ggaagggggg atggcataga 360
aagagcagga ccttggggac aagaatatct aagtttaatt cctgactctg ctatttatta 420
actaaccatc tttgccaatg ttgcctaagc tttttggct acattttttt atttgtaaag 480
taagtttaat aatcactcat ctcactggc tataatgata agtattaagt aaggaagatc 540
cacatatgtg agttgtggc ttataatca cactcaagag atactgattt tgtcaattgt 600
cctttccctt tttttctct cttccctctt tccatccctt cttcccttac ctctcccttc 660
cttccctcac acccccttcc cttccctctt tttacatttt tttatTTaaa tgaacttttc 720
attttggaat agttttagga tttcaaaaaa tttcagaga taatacagag aatgccata 780
taccatcttc ttatccac ttctttttgt gtctattaga tgctcagagt gtgtgcacaa 840
ggctggcagc cccagggctc tcctcatggc actaacagtc tactgaaagg tggAACAGAG 900
acaaggctat caacacctac aagactgggt gtaagtgcag tgacagatgc aaaacacagg 960
gtgatggaaa gcccctcagga gggtaaccta acctagattt gaggggcccaa caggctccag 1020
aagaaaatgt caactgagag gaagcctgaa ggatgaacag tgggcttaagc aaagggttat 1080
taatgtgtta ttaatgggtt gaatctaatt gggaaaggag agagtttgc gagtggagtg 1140
cagagcttgg tggacgatgc caaaggaaat ctgaaacctt tagtgtgtcc agtctggAAC 1200
tgcacatccaa ttccagggtca gtaatgtat cattatccaa acataccctc tgaaaattc 1260
atgtctaaact acctaagagc tatctaccgt tccaaagcaa tagtgacttt gaacagtgtt 1320
caccagagca cggaaagatt acaagatttt tttttaaaga aaattggcca ggaataatgt 1380
agtaacgaag gacaggaagt aattgtgaat gtttaatata gctggggctt tgcatgtttgg 1440
cttaagttgt tagttttgtt ttccctcttga gaaataaaaaa ctaagggggcc ctcccttttc 1500
agagccttat ggcgcacat ctgtactttt tcataatggtt aactgtccat tccagaaacg 1560
tctgtgagcc tctcatgttg cagccacaac atggacagcc cagtccaaatg ccccgcaagt 1620
ctttctctga gtgactccag caatttagcca aggctctgt acccaggcag gacccctgcg 1680
ctctgagctc cattccctt caagacccccc ccaactccccc aggttgaact acagcagaag 1740
ccttttagaaa gggcaggagg ccggctctcg aggttccctcac ctgaaagtgcag catgccagcc 1800
actgcaggaa cgccccggga caggaatgcc cattttgtca acgaaccctg actcccttct 1860
caccctgact tctcccccctc cctaccccgcc cgcaggccaa gttgctgaat caatggagcc 1920
ctcccccaacc cgggcgttcc ccagcgagcc ttccctccca ttccctctgac caccggggct 1980
tttcgtgacg tcgtctctga ttccggccaa gagtgacaca caggtgttca aagacgcttc 2040
tggggagtga gggaaagggtt ttagcgttca cttggcttggc gcctcagggg cgggcactgg 2100
cacggaaac acccctgaggc cagccctgac tgcccaggcg gagctgcctc ttctcccgcc 2160
ggttgggtgg cccgctcagt acggagttgg ggaagctttt tcacttcgga ggattgtca 2220
acaaccatgc tgggcacatctg gaccctccca cctctggtca tccctcttcc gcccgggtgg 2280
aggcttaccc cgtcttagtc ccggggatag gcaaagtggg gccccggccgg gacccgtgcg 2340
ggattgcggc ggcagcggcg cacgcgggca cctggagccg gccccgtgtc gccccggggcg 2400
ttggagactg gctcccgccgg gctgttagga cttccctca gccccgggtgg ctcagaacga 2460

tggaggactt gctttcttg ggcccttgatg cgaagtgtcg atccccgtgg gcagggcgaaa 2520
 cagctccggc gtcctctgg aaccactgcg ctccacatgg aggtggcggt gggggcgaa 2580
 caggaattga agcggaaatc tggttaagctt tagggtcgt ggagggggac cccgggttgg 2640
 gagaggagcg gaactcttgg acaaggccctg acaaggccaa ccaaagggtcc gtcctccggc 2700
 ggggtgggtga gtgcgcggc ccccgcgggg gccccggggag agcctacagc cttcaagaaca 2760
 catattgttc attttcttggc agttctcaga cgttagaaat aagtcaaac cgaaggcgtg 2820
 gttaaaggccg agggtctcgga agaacggcac ctttttttc tcgaaaaagt tatatgggg 2880
 ctgaatgagc ttctggggc tttttttccctt aagactgtaa gtcgctgcct gagtggttc 2940
 ctttgtctcc ctccggggaa ttctctctt cttctttgc cttttcttag cttgcactcc 3000
 attttgtttt gttttcttc cttctctt cttctttgc cttttcttag cttgcactcc 3060
 catggtatt tctgtttgtt ctctgtgtgg ggttgggtt actcggtccc accgcacaga 3120
 acccggcgcc tattattggc caagaaactt gaggcgttgg ttttggaaag tccctcgctc 3180
 agaaaatgcca gcttgcagat ggctaataca ag 3212

<210> 2
 <211> 720
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 2
 gatccccgtg ggcaggcgaaa gcaagctccgg cgctcctcg agaccactgc gtcacacgtt 60
 gaggtggcg tggggggcg acaggaattt aagcggaaatg ctggaaaggt ttagggtcgc 120
 tggagggggaa ccccggttgg agagaggagc ggaacctctg gacaaggccct gacaaggccaa 180
 gccaaagggtc cgctccggc cgggtgggtg agtgcgcggc gccccgcggg ggcggggaga 240
 gaggctacag cttcagaac acatattgtt cattttctgg cagttcttag acgttagggaa 300
 taagtcagca ccgaaggcgt gtttaagccg gagggtcg gagaacggca cttttcttt 360
 ctcgaaaaag ttatatgggg gctgaatgag cttctggagg cttgtttacc gttttttatt 420
 gtcacacaga aaagggaaact gccttgcctc cttccggga attctcttta taagactgt 480
 agtcgctgcc tgagtggttt cattttgtt tggtttctg cccttcttt tcttctttt 540
 cccttctta gcttgcactc ccatggat ttctgtgtgg tctctgtgt ggggtgggtgg 600
 tactcggttcc caccgcacag aaccggcgcc ctattattgg ccaagaaact tgagcagcct 660
 gttttggaaa gtcctcgct cagaaaatgcc agcttcaga tggctaataca aagagacgtg 720

<210> 3
 <211> 2380
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 3
 agttttttt gctacatttt ttatattgtt aagtaagttt aataatcaat cacttcactg 60
 ggctataatg ataagtatta agtaaggaaat atccacatat gtgagttgtt ggttataat 120
 tcacactcaa gagatactga ttttgcataat tgcctttcc ctttttttc tctttccct 180
 cttttccattc cttttccct tacctcttcc ttccctccct cacaccctt ttccctccct 240
 ctttttacat ttttttattt aaatgaactt ttcatattttt aatgttttta ggatttcaaa 300
 aaatttgcag agataataca gagaatggcc atataccatc ctccttatcc cacttctttt 360
 tgtgtctatt agatgtctag agtgcgtca caaggctggc acgcccaggg tcttcctcat 420
 ggcactaaca gtctactgaa aggtggaaaca gagaacggcc tatcaacacc tacaagactg 480
 gtggtaagtg cagtgcacaga tgccaaaacac aggtgtatgg aaagccctca ggagggttaac 540
 ctaacctaga tttgaggggcc caaaaggctt ccagaagaaa atgtcaactg agaggaagcc 600
 tgaaggatgtt acatggggctt aagcaaaaggg ttatattgtt gttatattgtt ggttgaatct 660
 aattggaaag ggagagggat tgcaagatgtt ggtgcagatgg ttgggtggacg atgccaaagg 720
 aatactgtttt cttttttttt gtcctttttt gtcctttttt gtcctttttt gtcctttttt 780
 atgtcatat ccaaaatcatc cttctgtttt attcatgtca aactactaa gagctatcta 840
 ccgttccaaa gcaatgtca ctttgcacatc tggttccatc aacgcggaaatg aattacaaga 900
 ttttttttta aagaaaattt gccaggaaat aatgtgttcaac gaaggacagg aagtaattgt 960
 gaatgtttaa tatagtgtttt gctatgtgtt ttgggtttttaatg ttgttagttt tttttttttt 1020
 ttgagaataaaaactaagg ggccctccct tttcaggatc ctatggcgca acatctgtac 1080
 tttttcatat ggttaactgtt ccattccagg aacgttgcgtt agcctctcat gttgcagcc 1140
 caacatggac agcccaatgtca aatggcccgcc aagtcttttctt ctgtgtact ccagcaattt 1200
 gccaagggtc ctgtacccatc gcaaggatcc tgcgttctgtt gtccttccatc cttcaagac 1260
 ctcccccaact tcccaatgtt aactacatgtt gaaacgttttta gaaaggccatg gaggccggct 1320
 ctgcaggatcc tcaatgtt gttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 1380
 tgcccatat tgcacacatgtt gttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 1440
 cgcgcgcagg ccaagttgtt gttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 1500
 aggcttccctt cccatctcc tggccatgtt ggtttttttt ggtttttttt ggtttttttt 1560
 gcaagatgtt gttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 1620
 gttacttggc tggacttggc gggggcgaaa ctggcacttgg acacacccttggc agggccaggcc 1680

tggctgccc	ggcgaggctg	cctcttctcc	cgcgacatg	tacagagctc	gagaagtact	1740
agtggccacg	tggccgtgc	accttaagct	ttagggtcgc	tggaggggga	ccccgggttg	1800
agagaggagc	ggaactcctg	gacaaggccct	gacaagccaa	gccaaaaggtc	cgctccggcg	1860
cgggtgggtg	agtgcgcgc	gccccgggg	ggcggggaga	gagcctgcag	cttcagaac	1920
agatattgct	cattttctgg	cagttctcag	acgttagaaaa	taagtcatca	ccgaagcagt	1980
ggttaagccg	gagggctcgg	aagaacggca	ccctttctt	ctcgaaaaag	ttatatgggg	2040
gctgaatgag	cttctggagg	cttgttacc	gtttttttt	gtcacacaga	aaaggaaact	2100
gccttgctc	ccttccggga	attctctt	taagactgt	agtcgctgcc	tgagtggtt	2160
cattttgtt	tgttttctg	cccttctt	tcttctttt	ccctttctta	gttgcactc	2220
.ccatgggtat	ttctgcttgg	tctctgtgt	gggttgggtgg	tactcggtcc	caccgcacag	2280
aaccggcgc	ctattattgg	ccaagaaaact	tgagcagcc	gtttgaaaa	gtccctcgct	2340
caaaaaatgcc	agcttgcaga	tggctaata	aagagacgtg			2380

<210> 4
<211> 2827
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<210> 5
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 5

20

ggacaagccc tgacaaggcca

<210> 6
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 6

20

ggaaaagccc tgacaaggcca

<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 7

20

ggaaaagccc tgaaaagcca

<210> 8
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 8

20

ggaaaatccc tgaaaatcca

<210> 9
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 9

20

gcacaagccc tcacaaggcca

<210> 10
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 10

20

ggacaagccc tgacaaggcca

<210> 11
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 11

20

ggaaaatccc tgaaaatcca

<210> 12
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 12 20
agagatgccc aaactgtttt

<210> 13
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 13 20
agagattccc aaaatgtttt

<210> 14
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 14 20
aatgttgctt aagctttttt

<210> 15
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 15 20
aatgtttctt aagatttttt

<210> 16
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 16 20
aaactaccta agagctatct

<210> 17
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 17 20
acaataccta agagctatct

<210> 18
<211> 40
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 18 40
aataacctt agagatgccc aaactgtttt ccccgagaaca

<210> 19
<211> 26
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 19

26

aataaaccttt agatctcccc agaaca

<210> 20
<211> 40
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 20

40

catctttgcc aatgttgctt aagctttttt ggctacattt

<210> 21
<211> 26
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 21

26

catctttgcc actagtggctacattt

<210> 22
<211> 40
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 22

40

aattcatgct aaactaccta agagctatct accgttccaa

<210> 23
<211> 26
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 23

26

aattcatgct atgcataaccg ttccaa

<210> 24
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 24

20

ggacaaggccc tgacaaggcca

<210> 25
<211> 20
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 25

gaaaaatccc tgaaaatcca

<210> 26
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 26

aataacctt agagatgcc aactgtttt ccccaagaaca

40

<210> 27
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 27

aataacctt agatctcccc agaaca

26

<210> 28
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 28

catcttgcc aatgttgctt aagttttt ggctacattt

40

<210> 29
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 29

catcttgcc actagtggct acattt

26

<210> 30
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 30

aattcatgct aaactaccta agagctatct accgttccaa

40

<210> 31
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 31

aattcatgct atgcataccg ttccaa

26

<210> 32
<211> 266
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 32

gatcccgctg ggcaggcggg gcagctccgg cgctcctcgg agaccactgc gctccacgtt	60
gaggtggcg tggggggcgg acaggaattg aagcggaaat ctgggaagct ttagggtcgc	120
tggagggggaa ccccggttgg agagaggagc ggaactcctg gacaagccct gacaagccaa	180
gc当地aaaggta cgctccggcg cgggtgggtg agtgcgcgcc gccccgcggg ggccgggaga	240
gaggcctgcag cttcagaac agatat	266

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) K 2743 Wd

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG P53-Bindungsregionen

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Deutsches Krebsforschungszentrum
Stiftung des öffentlichen Rechts
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg

Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

KRAMMER, Peter
Werderstr. 11
69120 Heidelberg

Diese Person ist:

nur Anmelder

Anmelder und Erfinder

nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

alle Bestimmungsstaaten

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

Anwalt

gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

HUBER & SCHÜSSLER

Patentanwälte · Patent Attorneys
Truderinger Straße 246 · 81825 München
Tel. 089/42 72 47 48 · Fax 089/42 72 47 49

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Zustellschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellschrift angegeben ist.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung.
Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Müller-Schilling, Martina
In der unteren Rombach 16
69118 Heidelberg

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

 alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung.
Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

OREN, Moshe
Weizmann Inst. of Science
REHOVOT 76100 / Israel

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

IL

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

 alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung.
Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

 alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung.
Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

 nur Anmelder Anmelder und Erfinder nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

 alle Bestimmungsstaaten alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika nur die Vereinigten Staaten von Amerika die im Zusatzfeld angegebenen Staaten Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STÄTTEN
Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist

EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist

EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist

OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Karneur, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

GK

Nach welches Patente (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

Nationales Patent

- | | |
|--|---|
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albanien | LS Lesotho |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenien | LT Litauen |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Österreich | LU Luxemburg |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien | LV Lettland |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan | MD Republik Moldau |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | MG Madagaskar |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados | MK Die ehemalige jugoslawische Republik
Mazedonien |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgarien | MN Mongolei |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brasilien | MW Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus | MX Mexiko |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada | NO Norwegen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | NZ Neuseeland |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China | PL Polen |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Kuba | PT Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | RU Russische Föderation |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Dänemark | SD Sudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estland | SE Schweden |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spanien | SG Singapur |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finnland | SI Slowenien |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | SK Slowakei |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgien | SL Sierra Leone |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana | TJ Tadschikistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia | TM Turkmenistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GW Guineia-Bissau | TR Türkei |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Kroatien | TT Trinidad und Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Ungarn | UA Ukraine |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesien | UG Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel | US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Island | |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kirgisistan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kasachstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input checked="" type="checkbox"/> MN | |
| <input checked="" type="checkbox"/> MW | |
| <input checked="" type="checkbox"/> MX | |
| <input checked="" type="checkbox"/> NO | |
| <input checked="" type="checkbox"/> NZ | |
| <input checked="" type="checkbox"/> PL | |
| <input checked="" type="checkbox"/> PT | |
| <input checked="" type="checkbox"/> RO | |
| <input checked="" type="checkbox"/> RU | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SD | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SE | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SG | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SI | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SK | |
| <input checked="" type="checkbox"/> SL | |
| <input checked="" type="checkbox"/> TJ | |
| <input checked="" type="checkbox"/> TM | |
| <input checked="" type="checkbox"/> TR | |
| <input checked="" type="checkbox"/> TT | |
| <input checked="" type="checkbox"/> UA | |
| <input checked="" type="checkbox"/> UG | |
| <input checked="" type="checkbox"/> US | |
| <input checked="" type="checkbox"/> UZ | |
| <input checked="" type="checkbox"/> VN | |
| <input checked="" type="checkbox"/> YU | |
| <input checked="" type="checkbox"/> ZW | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Indien

Grenada

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Indien

- Grenada

LR Liberia

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Siehe Anmerkungen zu diesem Antragsformular

Feld Nr. VI PRIORITYANSPRUCH Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.

Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung: regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 16. Okt. 1998	198 47 779.1	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) _____ 1 _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) – (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden): ISA /	Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist): Datum (Tag/Monat/Jahr) Aktenzeichen Staat (oder regionales Amt)
--	--

Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:	Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:
Antrag : 4	1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil) : 11	2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht
Ansprüche : 2	3. <input type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):
Zusammenfassung : 1	4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift
Zeichnungen : 26	5. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:
Sequenzprotokollteil der Beschreibung : _____	6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:
Blattzahl insgesamt : 44	7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material
	8. <input type="checkbox"/> Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form
	9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzelnen aufführen): Scheck

Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.):

Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird:

Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWAHLTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.

München, 18.10.1999

Dr. Bernhard Huber

Patentanwalt

Vom Anmeldeamt auszufüllen

1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	2. Zeichnungen einge-gangen: <input type="checkbox"/>
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:	<input type="checkbox"/> nicht ein-gegangen:
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:	
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchengebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:

Unser Zeichen: K 2743 - hu / wd

p53-Bindungsregionen

Die vorliegende Erfindung betrifft p53-Bindungsregionen auf einer CD95-Rezeptor-DNA und die Verwendung der p53-Bindungsregionen zur Beeinflussung von Apoptose bzw. zur Identifizierung von hierfür geeigneten Substanzen.

p53 ist ein Tumorsuppressor, der bei DNA-Schäden induziert wird. Er aktiviert dann Zielgene, wodurch ein Wachstumsstillstand bei den die DNA-Schäden aufweisenden Zellen mit anschließender Reparatur der DNA-Schäden bzw. dem Tod der Zellen erreicht wird. Letzteres erfolgt durch Apoptose.

Eine Chemotherapie zielt darauf ab, in Tumorzellen DNA-Schäden zu verursachen. Diese sollen dann zur Induzierung von p53 und letztlich zum Tod der Tumorzellen führen. Vielfach zeigt sich allerdings, daß bestimmte Tumorzellen resistent gegen Chemotherapeutika sind oder nach kurzer Behandlungszeit resistent werden. Die Gründe hierfür sind bisher nicht genau bekannt.

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde, ein Mittel bereitzustellen, mit dem die Resistenz gegen Chemotherapeutika untersucht und gegebenenfalls in sie eingegriffen werden kann.

Erfindungsgemäß wird dies durch die Gegenstände in den Patentansprüchen erreicht.

Die vorliegende Erfindung beruht auf den Erkenntnissen des Anmelders, daß die Induktion von p53 durch Chemotherapeutika zu einer direkten Aktivierung von Apoptose führt. Insbesondere hat

er erkannt, daß p53 zu einer Aktivierung von CD95-vermittelter Apoptose führt, indem p53 sowohl die Expression des CD95-Liganden als auch des CD95-Rezeptors induziert. Ferner hat der Anmelder gefunden, daß p53 über p53-Bindungsregionen an CD95-Rezeptor-DNA bindet. Des Weiteren hat er solche Bindungsregionen im Intron 1 bzw. dem Promotor der CD95-Rezeptor-DNA identifiziert. Darüber hinaus hat der Anmelder erkannt, daß Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika darauf beruhen können, daß p53 nicht mehr an die vorstehenden p53-Bindungsregionen binden kann. (vgl. Tabelle 1 und Figuren 1-6).

Erfindungsgemäß werden die Erkenntnisse des Anmelders genutzt, eine p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA bereitzustellen.

Der Ausdruck "p53-Bindungsregion" umfaßt jegliche Region einer CD95-Rezeptor-DNA, an die ein p53 binden und die CD95-Rezeptor-DNA aktivieren, d.h. zur Transkription veranlassen, kann. Der Ausdruck "p53" umfaßt ein p53 in Wildtyp-Form wie auch ein p53 in veränderter Form, das vorstehende Funktion noch aufweist. Eine erfundungsgemäße p53-Bindungsregion kann durch übliche Verfahren identifiziert und bereitgestellt werden. Günstig ist es, eine CD95-Rezeptor-DNA (vgl. Behrmann, I. et al., Eur.J.Immunol. 24 (1994), 3057-3962) mit Sau 3A1 zu spalten und die Fragmente in die BamHI-Stelle von pBlueScript II KS⁺ zu inserieren. Die klonierten CD95-Rezeptor-DNA-Fragmente werden in DNA-Bindungsexperimente eingesetzt, in denen Zellextrakte aus Tumorzellen, z.B. H1299, Hep3B, HepG2 oder Huh7, verwendet werden, die vorher mit einem für p53 kodierenden Expressionsvektor, z.B. pCMVp53wt, transfiziert worden sind. Gebundene DNA-Fragmente werden mit einer Reporter-DNA, z.B. Luciferase-DNA, fusioniert. Dies kann z.B. in den Expressionsvektoren pGL3-Basic (Promega) bzw. pTATA-LUC (Wirth, T., Würzburg, Deutschland) erfolgen. Erhaltene Expressionsplasmide werden in Luciferase-Aktivitätstests auf ihre Aktivierbarkeit untersucht.

In bevorzugter Ausführungsform umfaßt eine p53-Bindungsregion die Sequenz von Fig. 4 (p53 Be-Sequenz) und/oder Fig. 5 (eine

oder mehrere der p53 Be-Sequenzen) bzw. eine hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedliche Sequenz. Der Ausdruck "eine durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedliche Sequenz" umfaßt jegliche Sequenz einer CD95-Rezeptor-DNA, die mit der DNA von Fig. 4 und/oder Fig. 5 hybridisiert und an die ein p53 binden und die CD95-Rezeptor-DNA aktivieren kann. Die Sequenz kann sich von der DNA von Fig. 4 und/oder Fig. 5 durch Additionen, Deletionen, Substitutionen und/oder Inversionen von ein oder mehreren Basenpaaren unterscheiden. Der Ausdruck "Hybridisierung" weist auf eine Hybridisierung unter üblichen Bedingungen, insbesondere bei 20°C unter dem Schmelzpunkt der Sequenz, hin.

In besonders bevorzugter Ausführungsform umfaßt eine p53-Bindungsregion die Sequenz von Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13, wobei die Sequenzen der Fig. 11, 12 und 13 Variationen der Sequenzen der Fig. 8, 9 bzw. 10 sind. Ferner sind die Sequenzen der Fig. 7, 8, 9 und 10 in Fig. 14 erläutert.

Eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion kann als solche oder in Kombination mit jeglicher anderen DNA vorliegen. Beispielsweise kann eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion in einem Vektor, gegebenenfalls in Kombination mit einer Reporter-DNA, z.B. Luciferase-DNA, vorliegen. Bevorzugte Kombinationen sind die DNA-Konstrukte CD95(Ps)-LUC, CD95(P)-LUC, CD95(I+SV)-LUC, CD95(Ps+I)-LUC, p1139, p1140, p1141, p1142, p1140 IMI, p1140 IMII, p1140 IMIII, p1140 IMIV, p1141 IMIII, p1141 1p53, p1141 2p53, p1141 3p53, p1141 ΔBgl, p1141 ΔSpe, p1141 ΔMph, p1142 TAG, p1142 IMIII, p1142 ΔBgl, p1142 ΔSpe und p1142 ΔMph, in denen eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion in den Expressionsvektoren pGL3-Basic bzw. pTATA-LUC vorliegt. Hinsichtlich der DNA-Konstrukte CD95(Ps)-LUC, CD95(P)-LUC, CD95(I+SV)-LUC, CD95(Ps+I)-LUC wird auf Beispiel 3 und Fig. 6 verwiesen. Die DNA-Konstrukte p1139, p1140, p1141, p1142, p1140 IMI, p1140 IMII, p1140 IMIII, p1140 IMIV, p1141 IMIII, p1141 1p53, p1141 2p53, p1141 3p53, p1141 ΔBgl, p1141 ΔSpe, p1141 ΔMph, p1142 TAG, p1142 IMIII, p1142 ΔBgl, p1142 ΔSpe und p1142

ΔMph enthalten die in den Figuren 7, 8, 9 bzw. 10 angegebenen Sequenzen, d.h. p53-Bindungsregionen bzw. Variationen davon (vgl. Fig. 11, 12 und 13). Die DNA-Konstrukte p1139, 1140, p1141 und p1142 werden bevorzugt und wurden bei der DSMZ (Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellen) am 24. Sept. 1999 hinterlegt, p1139 unter DSM 13075, p1140 unter DSM 13062, p1141 unter DSM 13063 und p1142 unter DSM 13064.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit, umfassend eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion (a) und übliche Hilfsstoffe (b), wie Puffer, Lösungsmittel, Träger, Kontrollen, etc. Von der p53-Bindungsregion können ein oder mehrere Vertreter vorliegen. Auch gelten die vorstehenden Ausführungen entsprechend.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht es, Mechanismen auf molekularer Ebene zu untersuchen, die sich bei der Schädigung von DNA ergeben. Solche Mechanismen umfassen die Reaktion der Zellen zur Behebung des DNA-Schadens bzw. zu ihrer eigenen Abtötung. Letzteres sind apoptotische Vorgänge. Die vorliegende Erfindung ermöglicht es Mechanismen zu untersuchen, die sich bei einer Chemotherapie ergeben. Ganz besonders können Resistenzen gegen Chemotherapeutika ursächlich untersucht werden. Beispielsweise kann mit einer erfindungsgemäßen p53-Bindungsregion festgestellt werden, ob ein aus Tumorzellen stammendes p53 noch eine Apoptose induzieren kann.

Ferner eignet sich die vorliegende Erfindung Substanzen zu identifizieren und bereitzustellen, die Apoptose beeinflussen können. Diese Beeinflussung kann eine Induktion oder eine Inhibition sein. Hierzu ist es günstig, eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion in Kombination mit einer Reporter-DNA in Zellen einzuführen, diesen die zu identifizierenden Substanzen zuzugeben, und auf die transkriptions-aktivierende bzw. transkriptions-inhibierende Wirkung der Substanzen zu selektieren. Mit diesen Substanzen können p53-Bindungsregionen in einer CD95-Rezeptor-DNA aktiviert bzw. inhibiert werden, wodurch eine

Apoptose induziert bzw. gehemmt werden kann.

Die vorliegende Erfindung liefert somit Mittel, mit denen in apoptotische Vorgänge eingegriffen werden kann. Dies ist von großer Bedeutung, da in vielen Erkrankungen apoptotische Vorgänge verändert sind. Beispielsweise ist die Apoptoserate bei Virus-, Leber- und neurodegenerativen Erkrankungen erhöht, während sie bei Autoimmun- und Tumorerkrankungen erniedrigt ist. Somit stellt die vorliegende Erfindung die Möglichkeit dar, in diese Erkrankungen therapeutisch einzutreten. Auch ist eine Anwendung in diagnostischer Hinsicht sinnvoll, dies insbesondere, wenn bei vorstehenden Erkrankungen eine p53-Gentherapie durchgeführt wird und die hierzu verwendeten Vektoren mittels erfindungsgemäßer Vektoren auf Wirksamkeit, Verfügbarkeit, etc. getestet werden.

Kurze Beschreibung der Zeichnungen

Fig. 1 zeigt die Expression des CD95-Rezeptors in Tumorzellen nach Behandlung mit Chemotherapeutika. Klinisch relevante Konzentrationen der Chemotherapeutika sind mit einem Stern gekennzeichnet. Die Tumorzellen exprimieren p53, kein p53 (-/- p53) bzw. p53, das in der Bindung an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA gestört ist (mt p53).

Fig. 2 zeigt die Antwort von mit Chemotherapeutika behandelten Tumorzellen auf die Induktion von Apoptose durch CD95-Rezeptor-Stimulation.

Fig. 3 zeigt die Expression des CD95-Rezeptors in mit einem Chemotherapeutikum behandelten Tumorzellen, wobei die Tumorzellen erst nach Transfektion mit einem für p53 kodierenden Expressionsplasmid p53 exprimieren.

Fig. 4 zeigt eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion (p53 BE) innerhalb des Introns 1 einer CD95-Rezeptor-DNA.

- Fig. 5 zeigt eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion (p53 BE) innerhalb des Promotors einer 9 Exons-umfassenden CD95-Rezeptor-DNA. Der Promotor weist drei p53-Bindungsregionen auf.
- Fig. 6 zeigt die Expression einer Luciferase-DNA nach Bindung von p53 an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion innerhalb eines die Luciferase-DNA enthaltenden Expressionsplasmids.
- Fig. 7 zeigt die Sequenz einer erfindungsgemäßen p53-Bindungsregion, wobei die Sequenz die Nukleotide 1-720 des Introns I der CD95-Rezeptor-DNA umfaßt. Die p53Be-Sequenz ist fett markiert.
- Fig. 8 zeigt die Sequenz einer erfindungsgemäßen p53-Bindungsregion, wobei die Sequenz die Nukleotide 448 - 2154 des Promotors, das Exon I und die Nukleotide 2223 - 2827 (entsprechen den Nukleotiden 116 - 720 der Sequenz von Fig. 7) des Introns I der CD95-Rezeptor-DNA umfaßt. Die p53Be-Sequenzen sind fett markiert.
- Fig. 9 zeigt die Sequenz einer erfindungsgemäßen p53-Bindungsregion, wobei die Sequenz die Nukleotide 1 - 2154 des Promotors, das Exon I und die Nukleotide 2223 - 2827 des Introns I der CD95-Rezeptor-DNA umfaßt. Die p53Be-Sequenzen sind fett markiert.
- Fig. 10 zeigt die Sequenz einer erfindungsgemäßen p53-Bindungsregion, wobei die Sequenz die Nukleotide 1 - 2154 des Promotors, das Exon I zusammen mit seinem 3'-Bereich und die Nukleotide 2223 - 2820 des Introns I zusammen mit seinem 5'-Bereich der CD95-Rezptor-DNA umfaßt. Die p53Be-Sequenzen sind fett markiert.
- Fig. 11 zeigt Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 8, wobei die Variationen Punktmutationen im Intron I

der CD95-Rezeptor-DNA sind.

Fig. 12 zeigt Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 9, wobei die Variationen Punktmutationen im Intron I und im Promotor sowie Deletionen im Promotor der CD95-Rezeptor-DNA sind.

Fig. 13 zeigt Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 10, wobei die Variationen Punktmutationen im Intron I und im Exon I sowie Deletionen im Promotor der CD95-Rezeptor-DNA sind.

Fig. 14 zeigt eine physikalische Karte von erfindungsgemäßen p53-Bindungsregionen, wobei (a) die Bindungsregion von Fig. 7, (b) von Fig. 8, (c) von Fig. 9 und (d) von Fig. 10 ist.

Die vorliegende Erfindung wird durch die nachstehenden Beispiele erläutert.

Beispiel 1: Nachweis der Expression des CD95-Rezeptors in mit Chemotherapeutika behandelten Tumorzellen (A) sowie der Antwort dieser Tumorzellen gegenüber der Induktion von Apoptose durch CD95-Rezeptor-Stimulation (B).

(A) Die Tumorzellen HepG2 (humanes Hepatoblastom), AGS (Colonkarzinom) HS746T (Magenkarzinom), MCF-7 (Brustkrebs), Hep3B (humanes Hepatoblastom), Huh7 (Hepatocellkarzinom) und HT29 (Colonkarzinom) werden mit den Chemotherapeutika Bleomycin, 5-Fluorouracil, Methotrexat, Mitomycin und Cisplatin behandelt. HepG2, AGS, HS746T und MC-7 exprimieren ein p53, das an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion bindet. Hep3B exprimiert kein p53. Huh7 und HT29 exprimieren ein p53, das in seiner Bindung an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion gestört ist. Die Expression des

CD95-Rezeptors wird durch FACScan bestimmt. Hierzu werden ein biotinylierter Anti-APO-1 (CD95-Rezeptor)-Antikörper und Quantum Red-Streptavidin (Sigma) als zweites Reagens für eine indirekte Immunfluoreszenz verwendet (vgl.

Fig.1).

Es zeigt sich, daß nur die Tumorzellen HepG2, AGS, HS746T und MCF-7, deren p53 an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion bindet, eine CD95-Rezeptor-Expression aufweisen.

- (B) Die Tumorzellen HepG2, Huh7 und Hep3B (vgl. (A)) werden mit den Chemotherapeutika 5-Fluorouracil, Methotrexat, Mitomycin, Cisplatin, Mitoxantron, Doxorubicin, Etoposid und Cyclophosphamid 48 h bzw. weitere 24 h in Kombination mit 100ng/ml IgG3-Anti-APO-1-Antikörper behandelt. Der Antikörper bewirkt eine CD95-Rezeptor-Stimulation. Es wird die Lebendzellrate bestimmt. Hierzu wird der MTT-Test durchgeführt, bei dem die Fähigkeit von lebenden Zellen bestimmt wird, lösliches gelbes Tetrazoliumsalz (MTT) in blaue Formazan-Kristalle zu reduzieren (vgl. Fig. 2).

Es zeigt sich, daß nur die Tumorzelle HepG2, deren p53 an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion bindet, eine verstärkte Antwort auf die Induktion von Apoptose aufweist.

Beispiel 2: Nachweis der Expression des CD95-Rezeptors in mit Bleomycin behandelten Tumorzellen, wobei die Tumorzellen erst nach Transfektion p53 exprimieren.

Die Tumorzellen Hep3B (0.6×10^6 Zellen), die normalerweise kein p53 exprimieren, werden mit 1 μ g

des für p53 kodierenden Expressionsvektors pCMVp53wt mittels des Calciumphosphat-Copräzipitationsverfahrens transfiziert. Anschließend werden die Tumorzellen mit Bleomycin behandelt. Es wird die Expression des CD95-Rezeptors durch FACScan bestimmt (vgl. Beispiel 1 (A); Fig. 3).

Es zeigt sich, daß durch die Expression von p53 eine Expression des CD95-Rezeptors erhalten wird.

Beispiel 3: Nachweis der Expression von Luciferase-DNA durch Bindung von p53 an eine erfindungsgemäße p53-Bindungsregion.

Es werden Expressionsplasmide hergestellt, wobei als Vektor der Expressionsvektor pGL3-Basic verwendet wird. In diesen Vektor werden die folgenden CD95-Rezeptor-DNA/Luciferase-DNA-Konstrukte inseriert:

CD95(Ps)-LUC

Die Luciferase-DNA ist verbunden über ihr 5'-Ende mit einer 1.43 kB Promotor-Region und dem 5'-Ende von Exon 1 der CD95-Rezeptor-DNA (HindIII-SacII-Fragment, vgl. Figuren 5 und 6).

CD95(P)-LUC

Die Luciferase-DNA ist verbunden über ihr 5'-Ende mit einer 1.9 kB Promotor-Region und dem 5'-Ende von Exon 1 der CD95-Rezeptor-DNA (vgl. Fig. 5 und 6).

CD95(I+SV)-LUC

Die Luciferase-DNA ist verbunden über ihr 5'-Ende mit dem "minimal" SV40 Promotor und einem 0.7 kB Intron 1-Fragment der CD95-Rezeptor-DNA (vgl. Fig. 4 und 6).

CD95(Ps+I)-LUC

Die Luciferase-DNA ist verbunden über ihr 5'-Ende mit

einem 0.7 kb Intron 1-Fragment und einer 1.43 kb Promotor-Region der CD95-Rezeptor-DNA (vgl. Figuren 4 und 6).

Die vorstehenden Expressionsplasmide (jeweils 1 µg) werden in Hep3B Tumorzellen transfiziert. Ebenfalls wird der Expressionsvektor pCMVp53wt (jeweils 100 ng) transfiziert. Beide Transfektionen erfolgen über das Calciumphosphat-Copräzipitationsverfahren. Es wird ein üblicher Luciferase-Test durchgeführt (vgl. Figur 6).

Es zeigt sich, daß mittels der DNA-Konstrukte CD95(PS)-LUC und CD95(P)-LUC eine etwa 2-fache Aktivierung der Luciferase gegenüber einer Kontrolle erreicht wird. Eine noch stärkere Aktivierung wird erreicht, wenn das DNA-Konstrukt CD95(I+SV)-LUC und insbesondere das DNA-Konstrukt CD95(PS+I)-LUC verwendet wird. In letzterem Fall beträgt die Aktivierung etwa den Faktor 50.

Tabelle 1

Induktion von p53, des CD95-Rezeptors und „Apoptose“ durch Chemotherapeutikum

Chemothera-peutikum	Wirkungs-mechanismus	p 53-Induktion	CD95 Rezeptor-Induktion	erhöhte Antwort gegenüber Induktion von Apop-tose durch CD95 Rezeptor-Stimu-lation
Fluorouracil	Antimetabolit	Pyrimidin-antagonist	+	+
Methotrexat	"	Folsäure-antagonist	+	**
Mitomycin	Alkylierung	+	+	**
Cisplatin	"	+	+	**
Cyclophos-phamid	"	+	+	**
Mitoxantron	Interkalie-rung	+	+	**
Doxorubicin	"	+	+	**
Etoposid	Mitose-Blockierung	Inhibierung der Topoisomerase II	+	**
Bleomycin	Inhibierung der DNA Polymerase	+	+	**

* Test auf Synergismus zwischen CD95-Rezeptor-Stimulation durch anti-AP0-1 und gleichzei-tiger chemotherapeutischer Behandlung: $p < 0.0001$

K 2743

Patentansprüche

1. p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA.
2. p53-Bindungsregion nach Anspruch 1, wobei sie die Sequenz von Fig. 4 und/oder Fig. 5 bzw. eine hiervon durch ein oder mehrere Basenpaare unterschiedliche Sequenz umfaßt.
3. p53-Bindungsregion nach Anspruch 2, wobei sie die Sequenz von Fig. 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13 umfaßt.
- 10 4. Vektor, umfassend die p53-Bindungsregion nach einem der Ansprüche 1-3.
5. Vektor nach Anspruch 4, wobei der Vektor ausgewählt ist aus CD95(Ps)-LUC, CD95(P)-LUC, CD95(I+SV)-LUC, CD95(Ps+I)-LUC, p1139, p1140, p1141, p1142, p1140 IMI, p1140 IMII, p1140 IMIII, p1140 IMIV, p1141 IMIII, p1141 1p53, p1141 2p53, p1141 3p53, p1141 ΔBgl, p1141 ΔSpe, p1141 ΔMph, p1142 TAG, p1142 IMIII, p1142 ΔBgl, p1142 ΔSpe und p1142 ΔMph.
- 20 6. Verwendung der p53-Bindungsregion nach einem der Ansprüche 1-3 bzw. des Vektors nach Anspruch 4 oder 5 zur Identifizierung von Apoptose beeinflussenden Substanzen.
7. Verwendung nach Anspruch 6, wobei die Beeinflussung eine Induktion oder eine Inhibition von Apoptose umfaßt.
- 25 8. Verwendung nach Anspruch 7, wobei die Beeinflussung im Rahmen einer Diagnose und/oder Therapie von Erkrankungen erfolgt.
- 30 9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Erkrankungen Virus-, Leber-, neurodegenerative, Autoimmun- und Tumorerkrankungen umfassen.

10. Verfahren zur Beeinflussung von Apoptose, umfassend die Aktivierung oder Inhibierung der p53-Bindungsregion einer CD95-Rezeptor-DNA nach einem der Ansprüche 1 bis 3.
- 5 11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei die Beeinflussung im Rahmen einer Diagnose und/oder Therapie von Erkrankungen erfolgt.
- 10- 12. Verfahren nach Anspruch 11, wobei die Erkrankungen Virus-, Leber-, neurodegenerative, Autoimmun- und Tumorerkrankungen umfassen.

K 2743

Zusammenfassung

5

p53-Bindungsregionen

Die vorliegende Erfindung betrifft p53-Bindungsregionen auf einer CD95-Rezeptor-DNA und die Verwendung der p53-Bindungsregionen zur Beeinflussung von Apoptose bzw. zur - 10 Identifizierung von hierfür geeigneten Substanzen.

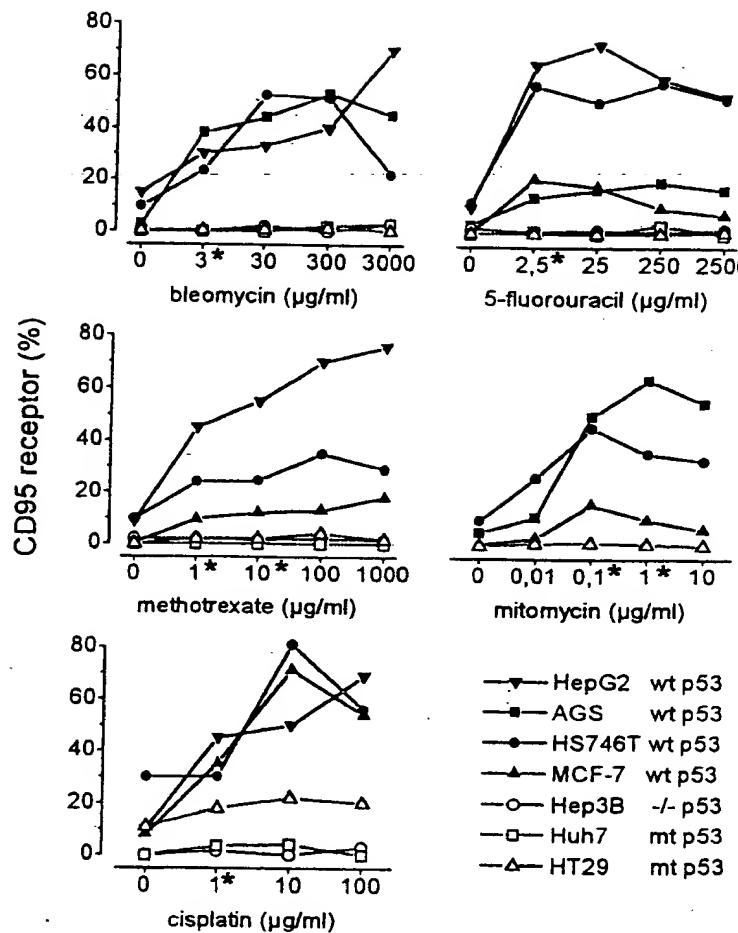


Fig. 1

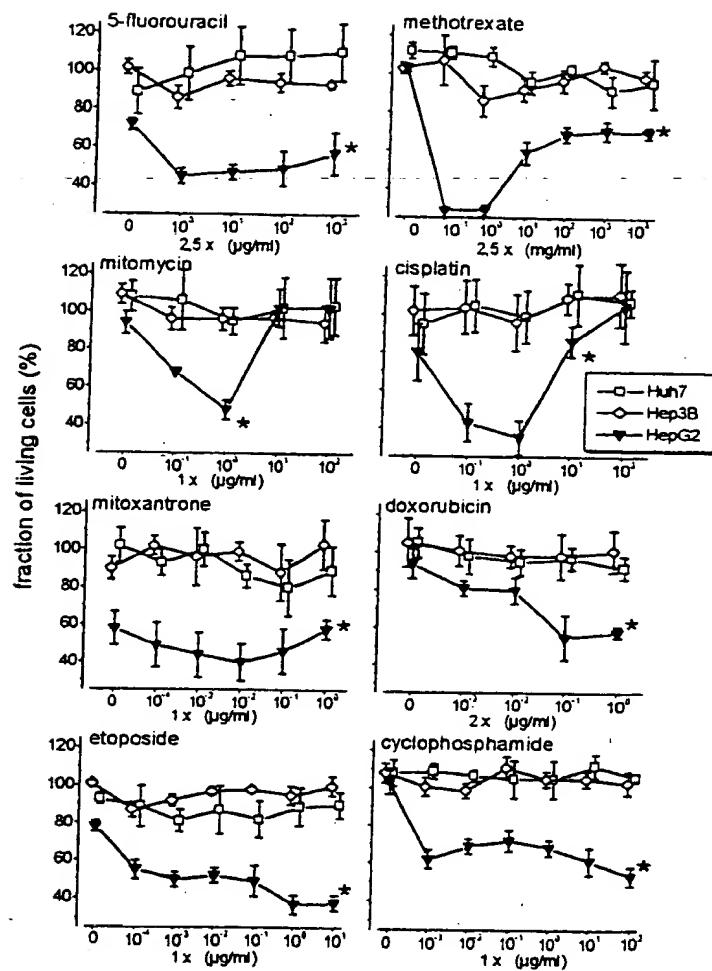


Fig. 2

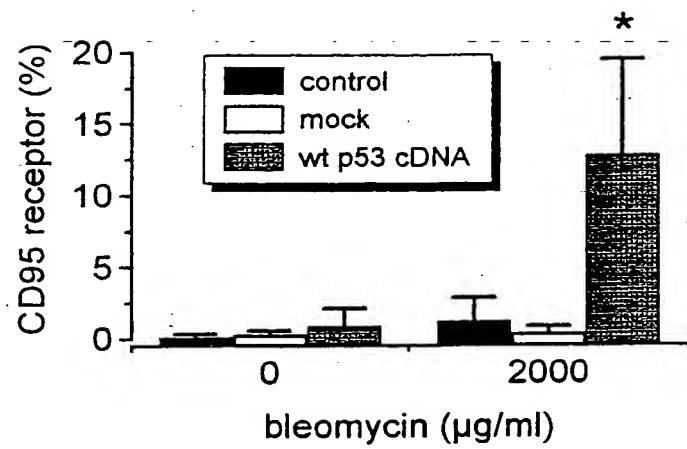


Fig. 3

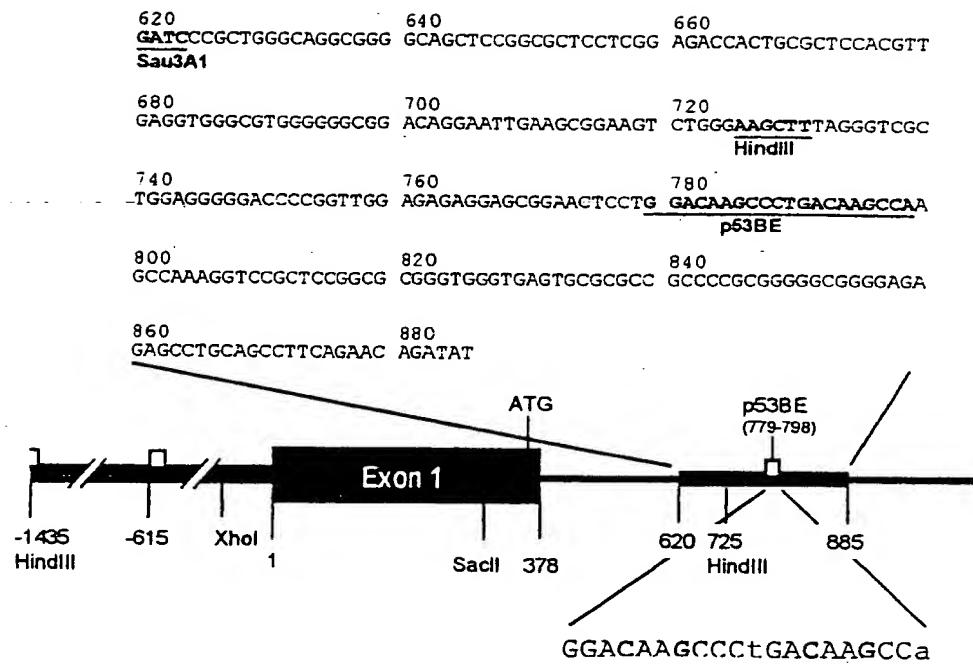


Fig. 4

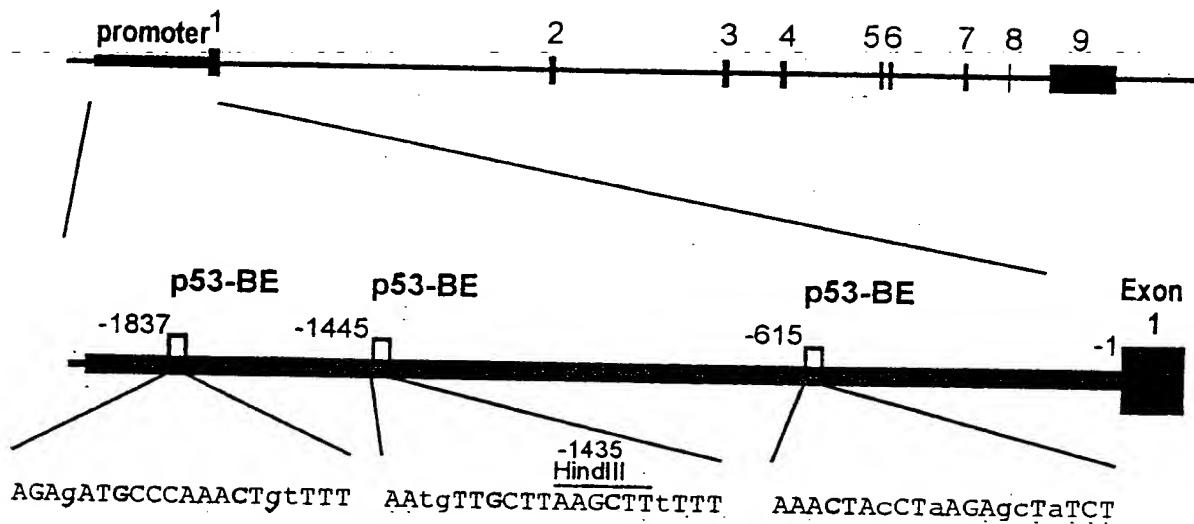


Fig. 5

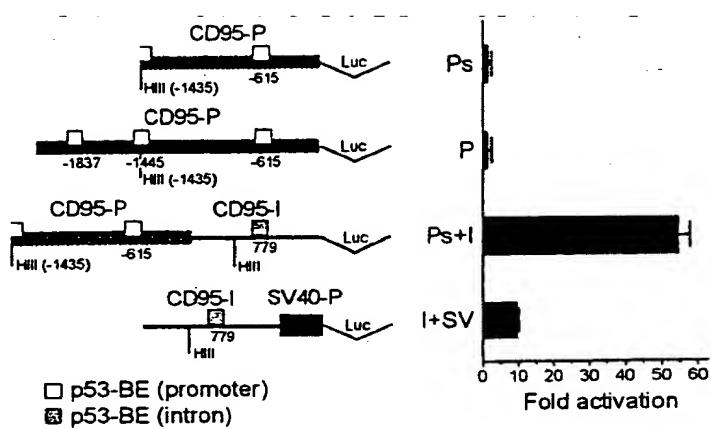


Fig. 6

GATCCCCTGGCAGGCAGGCTCCGGCGCTCCCTGGAGACCACTGCGCTCCACGTT
 1 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
 CTAGGGCGACCCGTCCGCCCGTCGAGGCCGAGGAGCCTCTGGTGACCGAGGTGCAA

 GAGGTGGCGTGGGGGGCGGACAGGAATTGAAGCGGAAGTCTGGGAAGCTTAGGGTCGC
 61 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
 CTCCACCCCGCACCCCCCGCCTGTCCTTAACCTCGCCTCAGACCCTCGAAATCCCAGCG

 <---- 4.P53-BE ---->
 (Intron)
 TGGAGGGGACCCCGTTGGAGAGAGGAGCGGAACCTCTGGACAAGCCCTGACAAGCCAA
 121 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
 ACCTCCCCCTGGGGCCAACCTCTCCTCGCCTTGAGGACCTGTTGGACTGTTGGTT

 GCCAAAGGTCCCGTCCGGCGCGGGTGGGTGAGTGCAGCGCCGCCCGCGGGGGCGGGGAGA
 181 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
 CGGTTCCAGGCGAGGCCGCGCCACCCACTCACGCGCGGGCGCCCCGCCCTCT

 GAGCCTACAGCCTTCAGAACACATATTGCTCATTTCTGGCAGTTCTCAGACGTAGGAAA
 241 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
 CTCGGATGTCGGAAGTCTTGTGTATAACGAGTAAAAGACCGTCAAGAGTCTGCATCCTT

 TAAGTCAGCACCGAACGAGTGGTTAAGCGGGAGGGCTCGGAAGAACGGCACCTTCTTT
 301 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
 ATTCACTCGTGGCTTCGTACCAATTGGCCTCCGAGCCTTCTGCCGTGGAAAAGAAA

 CTCGAAAAAGTTATATGGGGCTGAATGAGCTCTGGAGGCTTACCGTTTTTATT
 361 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 420
 GAGCTTTCAATATAACCCCGACTTACTCGAAGACCTCGAACAAATGGAAAAATAA

 GTCACACAGAAAAGGAAACTGCCTTGTCTCCCTCCGGAAATTCTCTCTTAAGACTGTA
 421 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 480
 CAGTGTGTCTTCTTGACGGAACAGAGGGAGGCCCTTAAGAGAGAAATTCTGACAT

 AGTCGCTGCCTGAGTGGTTCATTTGTTCTGCCCTCTCTTCTTTG
 481 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
 TCAGCGACGGACTCACCAAAAGTAAAACAAAACAAAAGACGGGAAGAGAAAGAAAAC

 CCCTTCTTAGCTGCACTCCCAGGTGATTCTGCTGGTCTCCTGCTGGGGTTGGTGG
 541 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
 GGAAAGAACGACGTGAGGGTACCAACTAAAGACGAACCGAGGGACGACCCCCAAC

 TACTCGTCCCACCGCACAGAACCCGGCGCTATTATGGCAAGAAACTTGAGCAGCCT
 601 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
 ATGAGCAAGGGTGGCGTGTCTTGGGCCGCGATAATAACCGTTCTTGAACTCGTCGGA

 GTTTGAAAAGTCCCTCGCTCAGAAATGCCAGCTGCAGATGGCTAATCAAAGAGACGTG
 661 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 720
 CAAAACTTTCAGGGAGCGAGTCTTACGGTCGAACGTCTACCGATTAGTTCTGCAC

Fig. 8

2. Hälfte der
2.p53-BE
(Promotor)

	AGCTTTGGCTACATTTTATTGTAAAG	
448	-----+-----+-----+-----+	480
	TCGAAAAACCGATGTAAAAAATAAACATTTC	
481	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	540
	TAAGTTAATAATCACTCATCTCACTGGGCTATAATGATAAGTATTAAGTAAGGAAGATC	
	ATTCAAATTATTAGTAGAGTGACCCGATATTACTATTCTATAATTCAATTCAATTCTCTCTAG	
541	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	600
	CACATATGTGAGTTGCTGGCTTATAATTCAACTCAAGAGAGATACTGATTTGTCAATTGT	
	GTGTATACACTCAACGACCGAATATTAAGTGTGAGTTCTATGACTAAAACAGTTAACAA	
601	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	660
	CCTTCCCCCTTTCTCTCTTCCCTCCATTCTTACCTCTTACCTCTCTTTC	
	GGAAAGGGAAAAAAAGAGAGAAGGGAGGAAGGTAAAGGAAGAAGGGAAATGGAGAGGAAAG	
661	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	720
	CTTCCCTCACACCCCTTTCTCTTACATTTTATTAAATGAACCTTTC	
	GAAGGGAGTGTGGGAAAGGAAGGAAGAAAATGTAAAAAAATAATTACTTGAAAAG	
721	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	780
	ATTGGAAATAGTTAGGATTCAAAAATTGCAGAGATAATACAGAGAATGCCATA	
	TAAAACCTTATCAAAATCCTAAAGTTTAAACGTCTCTATTATGTCTCTACGGGTAT	
781	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	840
	TACCATCCTCTTATCCCACCTCTTTGTGTCTATTAGATGCTCAGAGTGTGCACAA	
	ATGGTAGGAGGAATAGGGTGAAGAAAACACAGATAATCTACGAGTCTCACACACGTGTT	
841	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	900
	GGCTGGCACGCCAGGGCTTCTCATGGCACTAACAGTCTACTGAAAGGTGGAACAGAG	
	CCGACCGTGGGGTCCCAGAAGGAGTACCGTATTGTCAAGATGACTTCCACCTGTCTC	
901	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	960
	ACAAGCCTATCAACACCTACAAGACTGGTGGTAAGTGCAGTGACAGATGCAAAACACAGG	
	TGTCGGATAGTTGTGGATGTTCTGACCACCATTCACGTCACTGTCTACGTTGTGTC	
991	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	1020
	GTGATGGAAAGCCCTCAGGAGGGTAACCTAACCTAGATTGAGGGCCAAACAGGCTCCA	
	CACTACCTTGGGAGTCTCCCATGGATTGGATCTAAACTCCCCGGTTGTCCGAGGT	
1021	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+	1080
	GAAGAAAATGTCAACTGAGAGGAAGCCTGAAGGATGAACAGTGGCTAAGCAAAGGGTTA	
	CTTCTTTACAGTTGACTCTCCTCGGACTTCTACTTGTCAACCGATTGTTCCCAAT	

Fig. 8 (Fortsetzung I)

1081 TTAATGTGTTATTAATGGGTTGAATCTAATTGGGAAGGGAGAGAGGTGCAGAGTGAGGT
1140 AATTACACAATAATTACCCAACTTAGATTAACCCCTCCCTCTCTCCAACGTCTCACTCCA
1141 GCAGAGCTTGGTGGACGATGCCAAAGGAATACTGAAACCTTTAGTGTGTCAGTCTGGAA
1200 CGTCTCGAACACCCTGCTACGGTTCCATTGACTTGGAAATCACACAGGTCAAGACCTT
1201 CTGCATCCAAATTCAAGGTTCAAGTAATGATGTCATTATCCAAACATACTTCTGTAAAATT
1260 GACGTAGGTTAAGTCCAAGTCATTACTACAGTAATAGGTTGATGGAAGACATTTAA

←--- 3.p53-BE ---→
(Promotor)

1261 CATGCTAAACTACCTAACAGAGCTATCTACCGTTCAAAGCAATAGTGACTTGAACAGTGT
1320 GTACGGATTGATGGATTCTCGATAGATGGCAAGGTTCGTTACTGAAACTTGTACA
1321 TCACCAGAGCACGAAAGAATTACAAGATTTTTAAAGAAAATTGCCAGGAAATAAT
1380 AGTGGTCTCGTCTTCTTAATGTTCTAAAAAAAATTCTTTAACCGGTCTTATTAA
1381 GAGTAACGAAGGACAGGAAGTAATTGTGAATGTTAATATAGCTGGGCTATGCGATTG
1440 CTCATTGCTCCTGCTTCATTAACACTACAAATTATCGACCCGATACGCTAAC
1441 GCTTAAGTTAGCTTGTGTTCTTGTGAGAAATAAAACTAAGGGCCCTCCCTTT
1500 CGAATTCAACAATCGAAACAAAAGGAGAACTCTTATTGGATTCCCCGGAGGGAAA
1501 CAGAGCCCTATGGCGAACATCTGACTTTCATATGGTTAATGTCCATTCCAGGAAC
1560 GTCTCGGGATACCGCGTTGAGACATGAAAAGTATACCAATTGACAGGTAAGGTCTTG
1561 GTCTGTGAGCCTCTCATGTTGAGCCACACATGGACAGCCCAGTCATAATGCCCGCAAG
1620 CAGACACTCGGAGAGTACAACGTGGTGTGACCTGTCGGGTAGTTACGGGGCGTTC
1621 TCTTCTCTGAGTGACTCCAGCAATTAGCCAAGGCTCTGTACCCAGGCAGGACCTCTGC
1680 AGAAAGAGACTCACTGAGGTGTTAATCGGTTCCGAGGACATGGTCCGTCTGGAGACG
1681 GCTCTGAGCTCCATTCTCCTTCAAGACCTCCCCACTTCCAGGTTGAACATACAGCAGAA
1740 CGAGACTCGAGGTAAGAGGAAGTTCTGGAGGGTTGAAGGGTCCAACTTGATGTCGTCTT
1741 GCCTTAGAAAGGGCAGGAGGCCGCTCTGAGGTCTCACCTGAAGTGAGCATGCCAGC
1800 CGGAAATCTTCCCGTCCCGGCCAGAGAGCTCCAGGAGTGGACTTCACTCGTACGGTCG
1801 CACTGCAGGAACGCCCGGGACAGGAATGCCATTGTCACGAAACCTGACTCCTTCC
1860 GTGACGTCTTGCAGGGCCCTGTCCTACGGTAAACACGTTGCTTGGACTGAGGAAGG
1861 TCACCCCTGACTTCTCCCCCTCCCTACCCGCGCGCAGGCCAAGTTGCTGAATCAATGGAGC
1920 AGTGGGACTGAAGAGGGGAGGGATGGCGCGCGTCCGGTTCAACGACTTAGTACCTCG

Fig. 8 (Fortsetzung II)

1921 CCTCCCCAACCGGGCGTTCCCAGCGAGGCTCCTCCATCCTCCTGACCACCGGGGC
 1980 GGAGGGGTTGGGCCCGCAAGGGTGCCTCGAAGGAAGGGTAGGAGGACTGGTGGCCCCG 1980
 1981 TTTTCGTGAGCTCGTCTCTGATCTCGCGCAAGAGTGACACACAGGTGTTCAAAGACGCTT
 2040 AAAAGCACTCGAGCAGAGACTAGAGCGCGTTCTCACTGTGTGTCACAAGTTCTGCAGA 2040
 2041 CTGGGGAGTGAGGGAAAGCGGTTACGAGTGACTTGGCTGGAGCCTCAGGGCGGGCACTG
 2100 GACCCCTCACTCCCTCGCCAATGCTCACTGAACCGACCTCGAGTCCCCGCCGTGAC 2100
 2101 GCACGGAACACACCCCTGAGGCCAGCCCTGGCTGCCAGGCAGCTGCCCTTCTCCGC
 2160 CGTGCCTTGTGTGGACTCCGGTGGGACCCGACGGTCCGCCCTGACGGAGAAGAGGGCG 2160
 2161 GGACATGTACAGAGCTCGAGAAGTACTAGTGGCCACGTGGCCGTGCACCTTAAGCTTA
 2220 CCTGTACATGTCTCGAGCTTCACTGATCACCGGTGCACCCGGCACGTGGAATTGAAAT 2220

←---4.p53-BE--
(Intron)

2221 GGGTCGCTGGAGGGGGACCCCGGTTGGAGAGAGGGAGCGGAACCTCTGGACAAGCCCTGAC
 2280 CCCAGCGACCTCCCCCTGGGGCAACCTCTCCTCGCCTTGAGGACCTGTCGGGACTG 2280

→

2281 AAGCCAAGCCAAAGGTCCGCTCCGGCGGGTGGTGAGTGCAGGCCGCCGGGGGC
 2340 TTCCGGTTCGGTTCCAGGCAGGCCGCCACCCACTCACGCCGGCGGGCGCCCCCG 2340
 2341 GGGGAGAGAGCCTGCAGCCTCAGAACAGATATTGCTCATTTCTGGCAGTTCTCAGACG
 2400 CCCCTCTCTCGGACGTGGAAGTCTTGTCTATAACGAGAAAAGACCGTCAAGAGTCTGC 2400
 2401 TAGGAAATAAGTCAGCACCGAAGCAGTGGTTAAGCCGGAGGGCTCGGAAGAACGGCACCT
 2460 ATCCCTTATTCACTCGTGGCTTCGTACCAATTGGCCTCCCGAGGCTTCTGCCGTGGA 2460
 2461 TTTCTTCTCGAAAAAGTTATATGGGGCTGAATGAGCTTCTGGAGGCTTACCGTT
 2520 AAAGAAAGAGCTTTCAATATAACCCCGACTTACTCGAAGACCTCGAACAAATGGCAA 2520
 2521 TTTTATTGTACACAGAAAAGGAAACTGCCTGTCTCCCTCCGGAAATTCTCTCTTAA
 2580 AAAATAACAGTGTCTTTCTTGACGGAACAGAGGGAGGCCCTTAAGAGAGAAATT 2580
 2581 GACTGTAAAGTCGCTGCCTGAGTGGTTCATTTGTTTCTGCCCTCTCTTCT
 2640 CTGACATTCAAGCGACGGACTCACCAAAGTAAAACAAAACAAAAGACGGGAAGAGAAAGA 2640
 2641 TCTTTGCCCTTCTTAGCTTGCACTCCATGGTGATTCTGCTTGGCTCCTGCTGGGG
 2700 AGAAAACGGGAAGAATCGAACGTGAGGGTACCACTAAAGACGAACCAAGAGGGACCCCC 2700

Fig. 8 (Fortsetzung III)

2701 TTGGTGGTACTCGTCCCACCGCACAGAACCCGGCGCTATTATTGGCCAAGAAACTTGA
AACCACCATGAGCAAGGGTGGCGTGTCTGGGCCGGATAATAACCGTTCTTGAAC 2760

2761 GCAGCCTGTTTGAAAAGTCCCTCGCTCAGAAATGCCAGCTTGCAGATGGCTAATCAAAG
CGTCGGACAAAACTTTCAGGGAGCGAGTCTTACGGTCGAACGTCTACCGATTAGTTTC 2820

2821 AGACGTG 2827
TCTGCAC

12/26

Fig. 9

<---- 1.p53-BE --

1 TGAGGACTCTCAGGAATATGCTGGTAAAATAACCTTAGAGATGCCAAACTGT
1-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 60
1 ACTCCTGAGAGTCCTATACGACCATTATTTATTGAAATCTCTACGGGTTTGACA
1-->
61 TTTCCCCAGAACACCAACAGCATTCAATTAGGTGTTCAATAGATTCTCAAAGGATTCCA
61-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 120
61 AAAGGGGTCTGTGGCGTAAGTAATCCACAAGTAAGTTATCTAAGAAGTTCTAAGGT
121 AAGGCAAAGAAGTTGGGAACAGTATATATAATTACCAACCCCTTGACATTAGCATAC
121-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 180
121 TTCCGTTCTTCAAACCCCTGTCAATATATAATTATGGGTTGGGAACTGTAATCGTATG
181 TAAGGGCCCTGAGAAGTTGGATTAAGAAAGTTCAAATTAAAGTAACCCAGAATT
181-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 240
181 ATTCCCGGACTCTCAAAACCTAATTCTTCAAAGTTAATTCAATTGGGTCTTAAAA
241 CTAAGATTATTTGACCATGAAACATATGTCCTCCCACAAAGCACATATTCTATCTCCTT
241-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 300
241 GATTCTAATAAAACTGGTACTTGTATACAGAGGGTGGTGTATAAGGATAGAGGAA
301 GAACCTGAGGATAATTAGACGTACGTGGTAGAGGGTAGGGGAAGGGGTATGGCATAGA
301-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 360
301 CTGAACTCCTATTAACTGCATGCACCCATCTCCATCCCCCTCCCCATACCGTATCT
361 AAGAGCAGGACCTGGGAGCAAGAATATCTAAGTTAATTCTGACTCTGCTATTATA
361-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 420
361 TTCTCGTCCTGGAACCCCTGTTATAGATTCAAATTAAAGGACTGAGACGATAATAAT

<---- 2.p53-BE ---->

421 ACTAACCATCTTGCCTAATGTTGCTTAAGCTTTGGCTACATTTTATTGTAAAG
421-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 480
421 TGATTGGTAGAAACGGTTACAACGAAATTGGAAAAACCGATGAAAAAAATAACATTTC
481 TAAGTTAATAATCACTCATCTCACTGGCTATAATGATAAGTATTAAAGTAAGGAAGATC
481-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 540
481 ATTCAAATTATTAGTGAGTAGAGTGACCCGATATTACTATTCTAATTCTCTCTAG
541 CACATATGTGAGTTGCTGGCTTATAATTCAACTCAAGAGATACTGATTTGTCAATTGT
541-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 600
541 GTGTATACACTCAACGACCGAATATTAAAGTGTGAGTTCTATGACTAAACAGTTAAC
601 CCTTCCCCCTTTTCTCTTCCCTCCATTCCATTCCCTACCTCTCCCTT
601-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 660
601 GGAAAGGGGAAAAAAAGAGAGAAGGGAGGAAGGTAAAGGAAGAAGGGATGGAGAGGAAAG

Fig. 9 (Fortsetzung I)

661 CTTCCCTCACACCCCTTCTCCTTACATTTTATTAAATGAACCTTC
 GAAGGGAGTGTGGGAAAAGGAAGGAAGAAAATGTAAAAAATAATTACTTGAAAAG 720
 721 ATTTGGAATAGTTAGGATTCAAAAATTGCAGAGATAATACAGAGAATGCCATA
 TAAAACCTATCAAATCTAAAGTTTAAACGTCTATTATGTCTTACGGGTAT 780
 781 TACCATCCTCCTTATCCCACCTCTTTGTGTCTATTAGATGCTCAGAGTGTGCACAA
 ATGGTAGGAGGAATAGGGTGAAGAAAACACAGATAATCTACGAGTCTCACACAGTGT 840
 841 GGCTGGCACGCCAGGGCTTCCTCATGGCACTAACAGTCTACTGAAAGGTGGAACAGAG
 CCGACCGTGCAGGTCCCAGAAGGAGTACCGTATTGTCACTGACTTTCCACCTGTCTC 900
 901 ACAAGCCTATCAACACCTACAAGACTGGTGGTAAGTCAGTGACAGATGCAAAACACAGG
 TGTCGGATAGTTGGATGTTCTGACCACCATTACGTCACTGTCTACGTTGTGTC 960
 991 GTGATGAAAGCCCTCAGGAGGGTAACCTAACCTAGATTGAGGGCCAAACAGGCTCCA
 CACTACCTTCGGGAGTCCTCCCATTGGATTGGATCTAAACTCCGGGTTGTCCGAGGT 1020
 1021 GAAGAAAATGTCAACTGAGAGGAAGCCTGAAGGATGAAACAGTGGGCTAAGCAAAGGTTA
 CTCTTTACAGTTGACTCTCCTCGGACTCCTACTTGTCAACCGATTGTTCCAAAT 1080
 1081 TTAATGTGTTATTAATGGGTGAATCTAATTGGGAAGGGAGAGAGGTTGCAGAGTGAGGT
 AATTACACAATAATTACCCAACCTAGATTAACCCCTCCCTCTCCAAACGTCCTCACTCCA 1140
 1141 GCAGAGCTTGGGACGATGCCAAGGAATACTGAAACCTTAGTGTGTCAGTCTGGAA
 CGTCTCGAACCAACCTGCTACGGTTCTTATGACTTTGGAAATCACACAGGTCAACCTT 1200
 1201 CTGCATCAAATTCAAGGTTAGTAATGATGTCATTATCAAACATACCTCTGTAAAATT
 GACGTAGGTTAAGTCCAAGTCATTACTACAGTAATAGGTTGTATGGAAGACATTAA 1260

<---- 3.p53-BE ---->

1261 CATGCTAAACTACCTAACAGAGCTATCTACCGTCCAAAGCAATAGTGACTTTGAACAGTGT
 GTACGATTGATGGATTCTCGATAGATGGCAAGGTTCTTATCACTGAAACTTGTCAAA 1320
 1321 TCACCAAGAGCACGAAAGAATTACAAGATTTTTAAAGAAAATGGCCAGGAAATAAT
 AGTGGTCTCGTCTTCTTAAATGTTCTAAAAAAATTCTTTAACCGGTCTTATTAA 1380
 1381 GAGTAACGAAGGGACAGGAAGTAATTGTGAATGTTAATATAGCTGGGCTATGCGATTG
 CTCATTGCTTCTGCTTCAACACTACAAATTATCGACCCGATACGCTAAAC 1440
 1441 GCTTAAGTTAGCTTGTCTTCTGAGAAAATAAAACTAAGGGGCCCTCCCTTT
 CGAATTCAACAATCGAAACAAAAGGAGAACTCTTATTTGATTCCCCGGGAGGGAAA 1500
 1501 CAGGCCCTATGGCGCAACATCTGTACTTTCTATGGTTAATGTCCTTACAGGAAC
 GTCTCGGGATACCGCGTTGTAGACATGAAAAGTATACCAATTGACAGGTAAAGGTCTTG 1560

Fig. 9 (Fortsetzung II)

1561 GTCTGTGAGCCTCTCATGTTGCAGCCACAACATGGACAGCCCAGTCAAATGCCCGCAAG
 CAGACACTCGGAGAGTACAACGTCGGTGTACCTGTCGGGTCAAGTTACGGGGCGTTC 1620

1621 TCTTTCTGAGTGACTCCAGCAATTAGCCAAGGCTCCTGTACCCAGGCAGGACCTCTGC
 AGAAAGAGACTCACTGAGGTGTTAACCGGTTCCGAGGACATGGGTCCCTGGAGACG 1680

1681 GCTCTGAGCTCCATTCTCCTCAAGACCTCCCCAACTTCCCAGGTTGAACACTACAGCAGAA
 CGAGACTCGAGGTAAGAGGAAGTTCTGGAGGGTTGAAGGGTCCAACTTGATGTCGTCTT 1740

1741 GCCTTAGAAAGGGCAGGAGGCCGGCTCTGAGGTCCACCTGAAGTGAGCATGCCAGC
 CGGAAATCTTCCCGTCCCGGCGAGAGCTCCAGGAGTGGACTTCACTCGTACGGTCG 1800

1801 CACTGCAGGAACGCCCGGGACAGGAATGCCATTGTGCAACGAACCTGACTCCTTCC
 GTGACGTCTTGCAGGGCCCTGCTTACGGTAAACACGTTGCTGGGACTGAGGAAGG 1860

1861 TCACCCCTGACTTCTCCCCCTCCCTACCCGCGCGCAGGCCAAGTTGCTGAATCAATGGAGC
 AGTGGGACTGAAGAGGGGAGGGATGGCGCGTCCGGTTCAACGACTTAGTTACCTCG 1920

1921 CCTCCCCAACCGGGCGTCCCCAGCGAGGCTCCTCCATCCTCCTGACCACCGGGGC
 GGAGGGGTTGGGCCCGCAAGGGGCGTCCGAAGGAAGGGTAGGAGGACTGGTGGCCCCG 1980

1981 TTTTCGTGAGCTCGTCTGTGATCTCGCGCAAGAGTGACACACAGGTGTTCAAAGACGCTT
 AAAAGCACTCGAGCAGAGACTAGAGCGCGTCTCACTGTGTTGCTTCAAGTTCTCGAA 2040

2041 CTGGGGAGTGAGGGAAAGCGGTTACGAGTGACTGGCTGGAGCCTCAGGGCGGGCACTG
 GACCCCTCACTCCCTCGCCAAATGCTCACTGAACCGACCTCGGAGTCCCCGCCGTGAC 2100

2101 GCACGGAACACACCCCTGAGGCCAGCCCTGGCTGCCAGGCGGAGCTGCCTCTTCTCCGC
 CGTGCCTTGTGAGGACTCCGGTCCGGACCGACGGGTCGCCCTGACGGAGAAGAGGGCG 2160

2161 GGACATGTACAGAGCTGAGAAGTACTAGTGGCACGTGGCCGTGCACCTTAAGCTTA
 CCTGTACATGTCTCGAGCTTCTGATCACCGGTGCACCCGGCACGTGGAATTGAAAT 2220

<---- 4.p53-BE
(Intron)

2221 GGGTCGCTGGAGGGGACCCCGGTTGGAGAGAGGAGCGGAACCTCTGGACAAGCCCTGAC
 CCCAGCGACCTCCCCCTGGGCCAACCTCTCCTCGCCTTGAGGACCTGTTGGGACTG 2280

----->

2281 AAGCCAAGCCAAAGGTCCGCTCCGGCGGGTGGGTGAGTGCGGCCGCCCGGGGGC
 TTGGTTCCAGGCGAGGCCGCCACCCACTCACGCGCGGGCGCCCG 2340

2341 GGGGAGAGAGCCTGCAGCCTCAGAACAGATATTGCTCATTTCTGGCAGTTCTCAGACG
 CCCCTCTCGGACGTGGAAGTCTGTCTAACGAGTAAAAGACCGTCAAGAGTCTGC 2400

13/28
Fig. 9 (Fortsetzung III)

2401 TAGGAAATAAGTCAGCACCGAACGAGCTGGTTAAGCCGGAGGGCTCGGAAGAACGGCACCT 2460
ATCCTTATTCACTCGTGGCTCGTCACCAATTGCCCTCCCGAGCCTTGCCTGGAA
2461 TTTCTTCTCGAAAAAGTTATATGGGGCTGAATGAGCTCTGGAGGCTGTTACCGTT 2520
AAAGAAAGAGCTTTCAATATACCCCCGACTTACTCGAAGACCTCCGAACAAATGGCAA
2521 TTTTATTGTACACAGAAAAGGAAACTGCCTTGTCTCCCTCCGGAAATTCTCTTTAA 2580
AAAATAACAGTGTGTCTTCCCTTGACGGAACAGAGGGAAAGGCCCTTAAGAGAGAAATT
2581 GACTGTAAGTCGCTGCCTGAGTGGTTCATTTGTTTGTCTGCCCTCTTTCT 2640
CTGACATTCAAGCAGGGACTCACCAAGTAAAACAAAAGACGGGAAGAGAAAGA
2641 TCTTTGCCCTTCTTAGCTGCCTCCCAGGTGATTCTGCTTGGCTCCGTGGGG 2700
AGAAAACGGGAAAGAACGTGAGGGTACCACTAAAGACGAACCAGAGGGACGACCCC
2701 TTGGTGGTACTCGTCCCCACCGCACAGAACCCGGCCCTATTATGCCAAGAAACTTGA 2760
AACCACCATGAGCAAGGGTGGCGTGTCTGGCCGCGGATAATAACCGGTCTTTGAAC
2761 GCAGCCTTTGAAAAGTCCCTCGCTCAGAAATGCAGCTTGCAGATGGCTAATCAAAG 2820
CGTCGGACAAAACTTTCAGGGAGCGAGTCTTACGGTCAACGTCTACCGATTAGTT
2821 AGACGTG
2821 2827
TCTGCAC

Fig. 10

<---- 1.p53-BE ---
(Promotor)

1 TGAGGACTCTCAGGAATATGCTGGTAAAATAACCTTAGAGATGCCAAACTGT 60
 1 ACTCCTGAGAGTCCTTATACGACCATTATTTATTGGAAATCTCTACGGTTTGACA
 -->
 61 TTTCCCCAGAACACCAAGCATTCAATTAGGTGTTCAATCAATAGATTCTCAAAGGATTCCA 120
 61 AAAGGGGCTTGTGGCGTAAGTAATCCACAAGTAAGTTATCTAAGAAGTTCTAAGGT
 121 AAGGCAAAGAAGTTGGGAACAGTATATATAATTACCCAACCCTTGACATTAGCATA 180
 121 TTCCGTTCTCAAACCCCTGTCAATATATAATTGGTTGGAACTGTAATCGTATG
 181 TAAGGGCCCTGAGAAGTTGGATTAAGAAAGTTCAAAATTAAAGTAACCCAGAATT 240
 181 ATTCCCGGACTCTCAAAACCTAATTCTCAAAAGTTAATTCAATTGGTCTTAAAA
 241 CTAAGATTATTCGACCATGAAACATATGTCCTCCCACAAAGCACATATTCTATCTCCTT 300
 241 GATTCTAATAAACTGGTACTTTGTATACAGAGGGGTGTTCGTGTATAAGGATAGAGGAA
 301 GAACTTGAGGATAATTAGACGTACGTGGTAGAGGGTAGGGGAAGGGGTATGGCATAGA 360
 301 CTTGAECTCCTATTAATCTGCATGCACCCATCTCCATCCCTCCCCATACCGTATCT
 361 AAGAGCAGGACCTTGGGAGCAAGAATATCTAAGTTAATTCTGACTCTGCTATTATA 420
 361 TTCTCGTCCTGGAACCCCTCGTTCTATAGATTCAAATTAAAGGACTGAGACGATAATAAT

<---- 2.p53-BE ---->
(Promotor)

421 ACTAACCATTTGCCAATGTTGCTTAAGCTTTGGCTACATTTTATTGTAAAG 480
 421 TGATTGGTAGAAACGGTTACAACGAATTGGAAAAACCGATGTAAGGAAACATTTC
 481 TAAGTTAATAATCACTCATCTCACTGGCTATAATGATAAGTATTAAGTAAGGAAGATC 540
 481 ATTCAAATTATTAGTAGAGTGACCCGATATTACTATTCAATTCAATTCTCTCTAG
 541 CACATATGTGAGTTGCTGGCTATAATTCAACACTCAAGAGAGACTGATTTGTCAATTGT 600
 541 GTGTATACACTCAACGACCGAATATTAAGTGTGAGTTCTATGACTAAACAGTTAAC
 601 CCTTCCCCCTTTCTCTTCCCTCCATTCTTACCTCTCCTTC 660
 601 GGAAAGGGAAAAAGAGAGAAGGGAGGAAGGTAAAGGAAGAAGGGAAATGGAGAGGAAAG
 661 CTTCCTCACACCCCTTCCCTCTTACATTTTATTAAATGAACTTTTC 720
 661 GAAGGGAGTGTGGGAAAAGGAAGGAAGAAAATGTAAGGAAATTTACTTGAAAAG
 721 ATTTGGAATAGTTAGGATTCAAAAATTGAGAGATAATACAGAGAATGCCATA 780
 721 TAAACCTTATCAAATCTAAAGTTAAACGTCTATTATGTCCTACGGGTAT

Fig. 10 (Fortsetzung I)

TACCATCCTCCTTATCCCACCTCTTTGTGTCTATTAGATGCTCAGAGTGTGACCAA
 781 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 840
 ATGGTAGGAGGAATAGGGTGAAGAAAAACACAGATAATCTACGAGTCTCACACACGTGTT

 GGCTGGCACGCCAGGGCTTCCTCATGGCACTAACAGTCTACTGAAAGGTGGAACAGAG
 841 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 900
 CCGACCGTGCGGGTCCCAGAAGGAGTACCGTATTGTCAAGATGACTTCCACCTGTCTC

 ACAAGCCTATCAACACCTACAAGACTGGTGGTAAGTCAGTGACAGATGCACAAACACAGG
 901 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 960
 TGTCGGATAGTTGGATGTTCTGACCACCATTACGTCACTGTCTACGTTGTGTC

 GTGATGGAAAGCCCTCAGGAGGGTAACCTAACCTAGATTGAGGGCCAACAGGCTCCAG
 961 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1020
 CACTACCTTCGGGAGTCCTCCCATTGGATTGGATCTAAACTCCGGTTGTCCGAGGTC

 AAGAAAATGTCAACTGAGAGGAAGCCTGAAGGATGAACAGTGGGCTAAGCAAAGGGTTAT
 1021 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1080
 TTCTTTACAGTTGACTCTCCTCGACTTCTACTTGTCAACCGATTGTTCCAATA

 TAATGTGTTATTAATGGGTTGAATCTAATTGGGAAGGGAGAGAGGTTGCAGAGTGAGGTG
 1081 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1140
 ATTACACAAATAATTACCCAACTTAGATTAACCCCTCCCTCTCCAAACGTCTCACTCCAC

 CAGAGCTTGGTGGACGATGCCAAGGAATACTGAAACCTTAGTGTGTCAGTCTGGAAC
 1141 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1200
 GTCTCGAACCCACCTGCTACGGTTCTTATGACTTGGAAATCACACAGGTAGACCTTG

 TGCATCAAATTCAAGGTTAGTAATGATGTCATTATCAAACATACCTTGTAAAATT
 1201 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1260
 ACGTAGGTTAAGTCCAAGTCATTACTACAGTAATAGTTGTATGGAAGACATTTAAG

<---- 3.p53-BE ---->

(Promotor)

ATGCTAAACTACCTAACAGAGCTATCTACCGTCCAAAGCAATAGTGACTTTGAAACAGTGT
 1261 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1320
 TACGATTTGATGGATTCTCGATAGATGGCAAGGTTCTTATCACTGAAACTTGTACCAA

 CACCAGAGCACGAAAGAATTACAAGATTTTTAAAGAAAATTGCCAGGAAATAATG
 1321 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1380
 GTGGTCTCGTCTTCTTAATGTTCTAAAAAAATTCTTTAACCGGTCTTATTAC

 AGTAACGAAGGACAGGAAGTAATTGTGAATGTTAATATAGCTGGGCTATGCGATTGG
 1381 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1440
 TCATTGCTTCCCTGTCCTTCATTAAACACTAACAAATTATCGACCCGATACGCTAAACC

 CTTAAGTTGTTAGCTTGTCTCTTGAGAAATAAAAACTAAGGGGCCCTCCCTTTC
 1441 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1500
 GAATTCAACAATCGAAACAAAGGAGAACTCTTATTGGATTCCCCGGAGGGAAAAG

 AGAGCCTTATGGCGAACATCTGTACTTTCATATGGTTAAGTGTCCATTCCAGAAACG
 1501 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1560
 TCTCGGAATACCGCGTGTAGACATGAAAAGTACCAATTGACAGGTAAGGTCTTGC

 TCTGTGAGCCTCTCATGTTGCAGCCACAACATGGACAGGCCAGTCAAATGCCCGCAAGT
 1561 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1620
 AGACACTCGAGAGTACAACGTGGTGTGACCTGTCGGGTCAAGTTACGGGGCGTTCA

 CTTCTCTGAGTGACTCCAGCAATTAGCCAAGGCTCTGTACCCAGGCAGGACCTCTGCG
 1621 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1680
 GAAAGAGACTCACTGAGGTGTTAACGGTCCGAGGACATGGTCCGTGGAGACGC

 CTCTGAGCTCCATTCTCTCAAGACCTCCCCACTTCCCAGGTTGAACTACAGCAGAAC
 1681 -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+ 1740
 GAGACTCGAGGTAAGAGGAAGTTCTGGAGGGTTGAAGGGTCAACTTGATGTCGTCTC

Fig. 10 (Fortsetzung II)

1741	CCTTTAGAAAGGGCAGGAGGCCGGCTCTGAGGTCTCACCTGAAGTGAGCATGCCAGCC GGAAATCTTCCCGTCCCTCGGCCGAGAGCTCCAGGAGTGGACTTCACTCGTACGGTCGG	1800
1801	ACTGCAGGAACGCCCGGGACAGGAATGCCATTGTGCAACGAACCCCTGACTCCTTCCT TGACGTCTTGCAGGGCCCTGTCCTACGGTAAACACGTTGCTGGGACTGAGGAAGGA	1860
1861	CACCTGACTTCTCCCCCTCCCTACCGCGCGCAGGCCAAGTTGCTGAATCAATGGAGCC GTGGGACTGAAGAGGGGGAGGGATGGGCGCGTCCGGTCAACGACTTAGTTACCTCGG	1920
1921	CTCCCCAACCGGGCGTTCCCAGCGAGGCTTCCTCCATCCCTGACCACCGGGGCT GAGGGGTTGGGCCCGAAGGGGTCGCTCCGAAGGAAGGGTAGGAGGACTGGTGGCCCCGA	1980
1981	TTTCGTGAGCTCGTCTGATTCGCGCAAGAGTGACACACAGGTGTTAAAGACGCTTC AAAGCACTCGAGCAGAGACTAGAGCGCTCTCACTGTGTGTCACAAGTTCTGCGAAG	2040
2041	TGGGGAGTGAGGGAAAGCGGTTACGAGTGACTTGGCTGGAGCCTCAGGGCGGGACTGG ACCCCTCACTCCCTCGCAAATGCTCACTGAACCGACCTCGGAGTCCCCGCCGTGACC	2100
2101	CACGGAACACACCCCTGAGGCCAGCCCTGGCTGCCAGGCGGAGCTGCCTCTCCCGCG GTGCCTTGTGTGGACTCCGGTCGGGACCGACGGGTCGCCTCGACGGAGAAGAGGGCGC	2160
2161	GTTGGTGGACCCGCTCAGTACGGAGTTGGGAAGCTTTCACTTCGGAGGATTGCTCA CCAACCACCTGGCGAGTCATGCCCAACCCCTCGAGAAAGTGAAGCCTCTAACGAGT	2220
2221	ACAACCATGCTGGCATCTGGACCCCTCACCTCTGGTATCCCTCTGCCGGGTGG TGTTGGTACGACCCGTAGACCTGGAGGATGGAGACCACTAGGGAGAGGACGGGCCACC	2280
2281	AGGCTTACCCCGTCTAGTCCCCGGGATAGGCAAAGTGGGGCGGGCGCGGACGCGTGC TCCGAATGGGGCAGAATCAGGGCCCTATCCGTTACCCCGCCCGCCGTGCGCACGC	2340
2341	GGATTGCGGGCGCAGCGCGCACGCGGGCACCTGGAGCGCGGGCTGCTGCGGGAGGCG CCTAACGCCGCCGTGCCCGCGTGCGCCGCGTGGACCCCTCGCCGCCGACGACCCCTCCGC	2400
2401	TTGGAGACTGGCTCCGGGGCTGTTAGGACCTCCCTCAGGCCGGTGCTCAGAACGA AACCTCTGACCGAGGGCCCCGACAATCCTGGAAGGGAGTCCGGGCCACGAGTCTTGCT	2460
2461	TGGAGGACTTGTCTTCTGGGCTTGATGCGAAGTGCTGATCCCGCTGGCAGGCGGG ACCTCCTGAACGAAAAGAACCCGGAACTACGTTCACGACTAGGGCGACCCGTCCGCC	2520
2521	CAGCTCCGGCGCTCTCGGAGACCACTGCGCTCCACGTTGAGGTGGCGTGGGGGGCGGA GTCGAGGCCGCCAGGAGCCTCTGGTGACGCCAGGTGCAACTCCACCCGCCACCCCCCGCCT	2580
2581	CAGGAATTGAAGCGGAAGTCTGGGAAGCTTAGGGTCGCTGGAGGGGGACCCCGGTTGGA GTCCTTAACCTCGCCTTCAGACCCCTCGAAATCCCAGCGACCTCCCCCTGGGGCCAACCT	2640

<---- 4.p53-BE ---->
(Intron)

2641	GAGAGGAGCGGAACTCCTGGACAAGCCCTGACAAGCCAAGCCAAAGGTCCGCTCCGGCGC CTCTCCTCGCCTTGAGGACCTGTCGGACTGTTGGTTCCAGGGCGAGGCCGCG	2700
------	--	------

Fig. 10 (Fortsetzung III)

2701	GGGTGGGTGAGTGC CGCCGCCCGCGGGGGAGAGAGCCTACAGCCTTCAGAACAA CCCACCCACTCACGCCGCCGGCGCCCCGCCCTCTCGGATGTCGGAAGTCTTG	2760
2761	CATATTGCTCATTTCTGGCAGTTCTCAGACGTAGGAAATAAGTCAGCACCGAAGCAGTG GTATAACGAGTAAAAGACCGTCAAGAGTCTGCATCCTTATTCACTCGTGGCTTCGTAC	2820
2821	GTAAAGCCGGAGGGCTCGGAAGAACGGCACCTTCTCGAAAAAGTTATATGGGGG CAATTCGGCCCTCCCGAGCCTTCTGCCGTGGAAAAGAAAGAGCTTTCAATATACCCCC	2880
2881	CTGAATGAGCTTCTGGAGGCTTACCGTTTTATTGTACACAGAAAAGGAAACTG GACTTACTCGAAGACCTCCGAACAAATGGCAAAAAATAACAGTGTGTCTTCCTTGAC	2940
2941	CCTTGTCTCCCTTCCGGAAATTCTCTTTAAGACTGTAAGTCGCTGCCTGAGTGGTTTC GGAACAGAGGGAGGCCCTTAAGAGAGAAATTCTGACATT CAGCGACGGACTCACCAAAG	3000
3001	ATTTTGTTTGTTTCTGCCCTCTCTTTGCCCTTCTTAGCTTGCACACTCC TAAAAACAAAACAAAAAGACGGGAAGAGAGAAAGAACGGAAAGAACGTGAGG	3060
3061	CATGGTATTCTGCTTGGTCTCTGCTGGGGTTGGTACTCGTCCCACCGCACAGA GTACCACTAAAGACGAACCAGAGGACGACCCCAACCACCATGAGCAAGGGTGGCGTGTCT	3120
3121	ACCCGGCGCCTATTATTGCCAAGAAACTTGAGCAGCCTGTTGAAAAGTCCCTCGCTC TGGGCCGCGGATAATAACCGGTTCTTGAACTCGTGGACAAACTTTCAAGGGAGCGAG	3180
3181	AGAAATGCCAGCTTGAGATGGCTAATCAAAG TCTTTACGGTCAACGTCTACCGATTAGTTTC	3212

Fig 11

Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 8

1. p1140 IMI

p1140	GGACAAGCCCTGACAAGCCA
p1140 IMI	GGAAAGCCCTGACAAGCCA

↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2270 (C→A)

2. p1140 IMII

p1140	GGACAAGCCCTGACAAGCCA
p1140 IMII	GGAAAAGCCCTGAAAAGCCA

↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2270 (C→A)

2280 (C→A)

3. p1140 IMIII

p1140	GGACAAGCCCTGACAAGCCA
p1140 IMIII	GGAAAATCCCTGAAAATCCA

↑ ↑ ↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2270 (C→A)

2273 (G→T)

2280 (C→A)

2283 (G→T)

4. p1140 IMIV

p1140 GGACAAGCCCTGACAAGCCA
p1140 IMIV **GCACAAGCCCTCACAAAGCCA**
 ↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2268 (G→T)
2278 (C→A)

Fig. 12

Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 9

1. p1141 IMIII

p1141	GGACAAAGCCCTGACAAGCCA
p1141 IMIII	GGAAAATCCCTGAAAATCCA
	↑ ↑ ↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2270

2273

2280

2283

2. p1141 1p53

p1141	AGAGATGCCAAACTGTTT
p1141 1p53	AGAGATTCCCAAAATGTTT
	↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 50

57

3. p1141 2p53

p1141	AATGTTGCTTAAGCTTTTT
p1141 2p53	AATGTTCTTAAGATTTTT
	↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 443

450

4. p1141 3p53

p1141	AAACTACCTAAGAGCTATCT
p1141 3p53	ACA ACTACCTAAGAGCTATCT ↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 1268 (A→C)
1270 (C→A)

5. p1141 ΔBgl

p1141	<---- 1.p53-BE ---->
p1141ΔBgl	AATAACCTTT AGAGATGCCAA CTGTTTCCCCAGAAC AATAACCTTTA----- GATCT CCCCAGAAC

6. p1141 ΔSpe

p1141	<---- 2.p53-BE ---->
p1141ΔBgl	CATCTTGCC AATGTTGCTTA AGCTTTGGCTACATT CATCTTGCCA----- CTAGT GGCTACATT

7. p1141 ΔMph

p1141	<---- 3.p53-BE ---->
p1141ΔBgl	AATTCA TGCTAA ACTACCTAAGAGCTATCTACCGTTCAA AATTCA TGCTATGCA -----TACCGTTCAA

Variationen in der p53-Bindungsregion von Fig. 10

1. p1142 TAG

Mutation der Positionen: 2227 (A→T)

2228 (T→A)

2. p1142 IMIII

p1142 GGACAAGCCCTGACAAGCCA

p1142 IMIII GG~~AAA~~**AT**CCCTG~~AAA~~**AT**CCA
↑ ↑ ↑ ↑

Positionen der Mutationen (fett und Pfeil): 2662 (C→A)

2665 (G→T)

2672 (C→A)

2675 (G→T)

3. p1142 ΔBgl

p1142 <---- 1.p53-BE ---->
AATAACCTT**A**GAGATGCCAAACTGTTTCCCCAGAACCA
p1142ΔBgl AATAACCTT**A**-----**G**ATCTCCCCAGAACCA

4. p1142 ΔSpe

p1142 <---- 2.p53-BE ---->
CATCTTGCC**A**ATGTTGCC**T**AAGCTTTGGCTACATTT
p1142ΔBgl CATCTTGCC**A**-----**C**TAGTGGCTACATTT

5. p114² ΔMph

<---- 3.p53-BE ---->

p1142

AATT CATGCTAA ACTAC TAAAG AGCT ATCT ACCG TTCC AA

p1142ΔBgl

AATT CATGCTATGCA-----TACCG TTCC AA

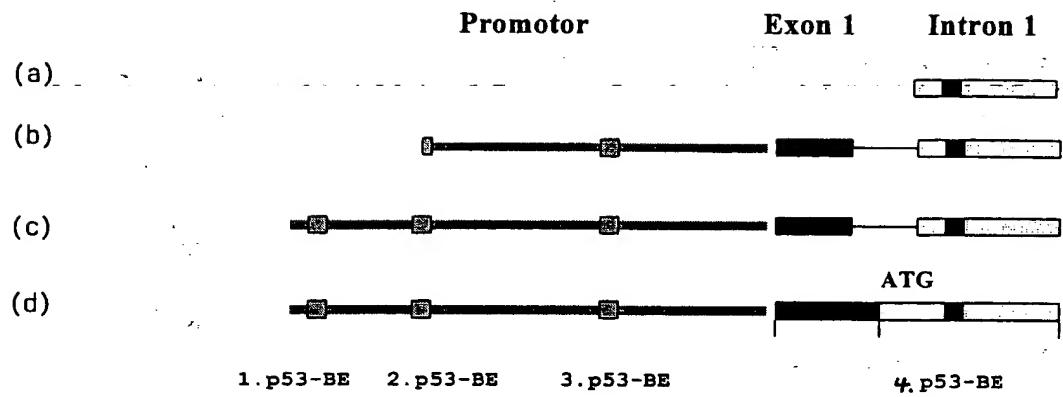


Fig. 14